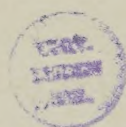
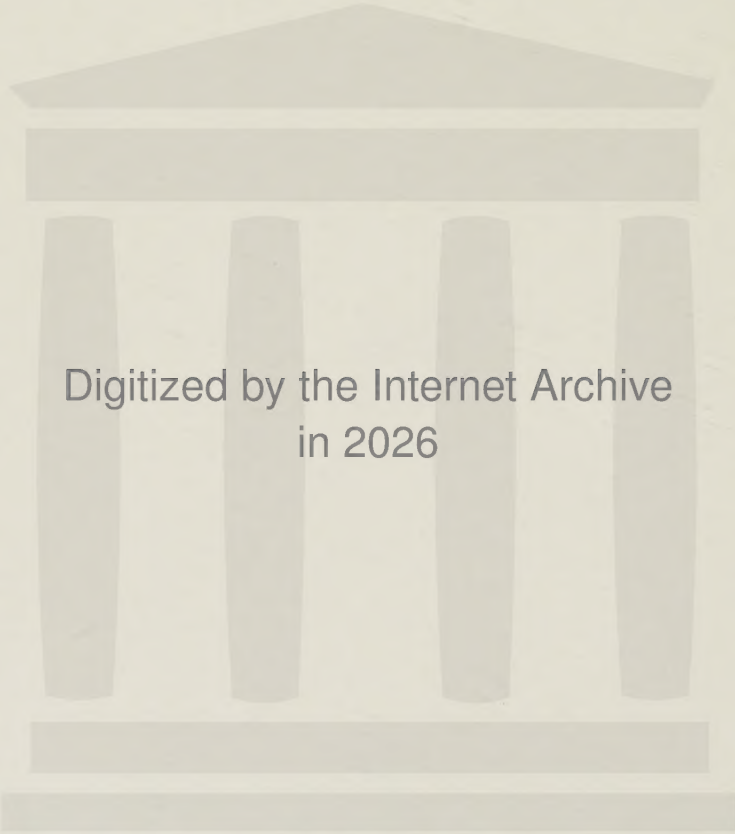


Zur Bedeutung der Aminosäure Tyrosin im Reproduktionsgeschehen der Ratte

Ruth Scheuermann

*Duss München
1984*





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554007_0020

Aus der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik
der Universität München

Lehrstuhl: Prof. Dr. M. Rüsse

ZUR BEDEUTUNG DER AMINOSÄURE TYROSIN
IM REPRODUKTIONSGESCHEHEN DER RATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Ruth Scheuermann
aus
Dortmund

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. M. Rüsse

Korreferent: Prof. Dr. A. Schmid

Tag der Promotion: 24. Februar 1984

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG.....	1
LITERATUR.....	3
Die Reproduktion bei Laborratten - physiologische Daten und deren Varia- tionsmöglichkeiten.....	3
Der Einfluß der Sexualhormone auf das Eintreten der Pubertät.....	7
Die Beteiligung endogener Opiate an der In- duktion der Pubertät und an der Reproduktion.	11
Die Steuerung von Pubertät und Reproduktion auf neurosekretorischer Ebene.....	16
Die Beeinflussung der Neurotransmittersyn- these durch das Angebot ihrer Vorstufen - der Einfluß von Tyrosin auf die Synthese der Katecholamine.....	22
Mögliche Zusammenhänge zwischen Streß und den die Pubertät bzw. Reproduktion steuernden Mechanismen.....	31
MATERIAL UND METHODE.....	35

	Seite
ERGEBNISSE.....	39
Präpuberale Entwicklung.....	39
Das Eintreten der Pubertät.....	42
Postpuberale Entwicklung, Zyklusgeschehen.....	44
Decktermin und Gravidität.....	47
Geburt, Anzahl der Früchte.....	62
DISKUSSION.....	69
ZUSAMMENFASSUNG.....	75
SUMMARY.....	78
LITERATURVERZEICHNIS.....	80
LEBENS LAUF	

EINLEITUNG

Mit dem Beginn der Geschlechtsreife scheint die Entwicklung des das Reproduktionsgeschehen steuernden endokrinen Systems abgeschlossen zu sein.

Es wird angenommen, daß die Induktion der Pubertät unter der Beteiligung von Mechanismen erfolgt, die die hormonellen Vorgänge kontrollieren. Diese übergeordneten Mechanismen sollen sowohl über klassische Neurotransmitter wie die Katecholamine als auch unter Einbeziehung des Systems der endogenen Opiate wirksam sein.

Es bestehen Anzeichen dafür, daß die Synthese und Freisetzung bestimmter Neurotransmitter durch die Applikation ihrer Vorstufen beschleunigt werden kann. So soll die Verabreichung der Aminosäure Tyrosin einen fördernden Einfluß auf die Aktivität der katecholaminergen Neurone hervorrufen.

Da den Katecholaminen über ihre das endokrine System steuernde Funktion eine die Reproduktionsvorgänge fördernde Wirkung zugesprochen wird, besteht die Möglichkeit, daß mit exogenen Gaben von Tyrosin ein positiver Effekt auf den Zeitpunkt der Pubertät oder auf die Reproduktionsleistung erreicht werden kann.

Ob diese Hypothese auf das Einsetzen der Pubertät und auf die Fortpflanzungsvorgänge bei Ratten zutrifft, wird im folgenden untersucht. Ferner soll überprüft werden, ob eine Beteiligung endogener Opiate an diesem Geschehen nachgewiesen werden kann.

LITERATUR

Die Reproduktion bei Laborratten - physiologische Daten und deren Variationsmöglichkeiten

Das Einsetzen der Pubertät bei Ratten ist u.a. abhängig von deren Zuchtrasse, Wurfgröße und Ernährungszustand.

Bei weiblichen Ratten beginnt die Geschlechtsreife mit der spontanen Öffnung des bis dahin geschlossenen Vaginallumens mit einem Alter, das von BENNETT et al. (1970) mit 28 bis 49 Tagen und von EHRENREICH (1981) mit 38 bis 42 Lebenstagen angegeben wird. Dabei weisen die Tiere ein zwischen 90 und 120g variierendes Körpergewicht auf, das etwa der Hälfte dessen des ausgewachsenen Tieres entspricht. Die Messung der Körperlänge, die zur Zeit der Vaginalöffnung 148 bis 150 mm betragen soll, soll einen genaueren Referenzwert darstellen.

Bei männlichen Ratten geht die Pubertät mit dem Hodenabstieg in das Scrotum einher; die sexuelle Reife soll mit etwa 40 Lebenstagen erreicht sein (BENNETT et al., 1970).

Einige Tage nach erfolgter Vaginalöffnung setzt gewöhnlich der erste Östrus der weiblichen Ratte ein, um polyöstrisch weiter in 4- bis 5-tägigen Zyklen, die histologisch an den charakteristischen Veränderungen des Vaginalepithels verfolgt werden können, wiederzukehren. Da die Zyklen in einem zir-

kadianen Rhythmus ablaufen, setzt der Östrus jeweils zwischen 16 und 22 Uhr ein; seine Länge beträgt etwa 13 bis 15 Stunden, die des vorangehenden Proöstrus 12 Stunden. Die spontane Ovulation erfolgt etwa 8 bis 10 Stunden nach dem Beginn des Östrus.

Die Zuchtreife der Ratten soll nach HAFEZ (1970) mit 100 Tagen bei einem Gewicht der weiblichen Tiere von 200 g und der männlichen Tiere von 300 g erreicht sein. Maximale Fruchtbarkeit soll bei einem Alter zwischen 100 und 300 Tagen vorliegen.

Nach BENNETT et al. (1970) ist das Phänomen der Pseudogravidität zu beobachten, wenn als Folge einer mechanischen Stimulation der Zervix oder der Vagina während des Östrus die Progesteronsekretion des Corpus luteum über 13 (10 - 14) Tage aufrecht erhalten wird. Während im Anschluß daran ein erneuter Östrus einsetzt, übernimmt bei dem Vorliegen einer physiologischen Gravidität ab diesem Zeitpunkt die Plazenta die Progesteronsekretion. So können Pseudogravidität und echte Gravidität frühestens am 14. Tag nach dem letzten aufgetretenen Östrus voneinander unterschieden werden.

Bei Laborratten beträgt die Graviditätsdauer 21 bis 23 Tage bei einer durchschnittlichen Wurfgröße von 8 bis 12 Früchten. Die Jungen werden bis zu einem Alter von 21 Tagen und einem Körpergewicht von 40 bis 50 g gesäugt.

Unter physiologischen Bedingungen können die genannten Daten durch den Einfluß veränderter Umweltsituationen variieren. So gelangen Ratten aus Würfen mit geringer Anzahl von Früchten früher zur Pubertät als andere.

Nach FOX (1970) hat Inzucht eine Verzögerung der sexuellen Reife zur Folge. Der Prozeß der Verschiebung des Pubertätsalters durch züchterische Selektionsmaßnahmen soll nur langsam erfolgen.

Es ist bekannt, daß ein funktionierendes Reproduktionssystem auf eine angemessene Nährstoffzufuhr angewiesen ist. So verzögert eine kalorische Unterversorgung den Eintritt der sexuellen Reife. Nicht nur der Proteingehalt, sondern auch die Art der aufgenommenen Eiweiße haben Einfluß auf die Fortpflanzungsfähigkeit.

Untersuchungen von SWANSON et al. (1983) ergeben, daß sich die soziale Umgebung fördernd oder hemmend auf das Eintreten der Pubertät auswirken kann. Während Isolation sowohl bei männlichen als auch weiblichen Ratten eine Beschleunigung der sexuellen Reife hervorrief, wurde sie verzögert nach Unterbringung von 10 Tieren gleichen Geschlechts in einen größeren Käfig. Ebenso wiesen die Tiere, die von der Geburt an bis zu einem Alter von 30 Tagen durch täglich wechselnde Ammen betreut wurden, frühere Reife auf als vergleichbare Kontrollen. In diesem Falle kann das zeitigere Einsetzen der Pubertät allerdings die Folge einer generell beschleunigten

Entwicklung darstellen, da die Zunahme des Körpergewichts der Versuchstiere ebenfalls schneller erfolgte.

Bei den meisten Labortieren soll das Einsetzen der Pubertät durch die Applikation von Schilddrüsenhormonen beeinflusst werden können (FOX et al., 1970).

WURTMAN et al. (1968a, b) beobachteten eine Verzögerung des Vaginalöffnungszeitpunkts nach Behandlung von Ratten mit dem Epiphysenhormon Melatonin. Ebenso haben Veränderungen des Beleuchtungsprogramms (Lichtdauer, -intensität, -wellenlänge) Einfluß auf den Beginn und die Fortsetzung des Zyklusgeschehens.

Eine Abnahme der Anzahl und der Größe der Würfe von Nagern erreichte SEELEY (1982) nach experimenteller Verabreichung von Weizen, der mit dem Prostaglandininhibitor Indomethacin präpariert worden war.

Nach Untersuchungen KRAUSSMÜLLERS (1976) hat die subkutane Applikation von 2-Br- α -Ergocryptin, einem Prolaktininhibitor, eine Hemmung der Verhaltensweisen, die zur Kopulation hinführen, mit ansteigender Häufigkeit aggressiver Verhaltensäußerungen bei männlichen Ratten zur Folge.

Der Einfluß der Sexualhormone auf das Eintreten der Pubertät

Der Ablauf der reproduktiven Prozesse unterliegt der Kontrolle zweier übergeordneter Systeme, des zentralnervösen und des endokrinen Systems. Das erstere übt eine an allen Orten sofort wirksame Kontrolle aus, während letzteres vorwiegend durch die Freisetzung von Substanzen funktioniert, die Antworten spezifischer Erfolgsorgane hervorrufen. Da die Bildung von funktionsfähigen Gameten das Zusammenwirken beider Systeme erfordert (EVERETT, 1964), wird das zeitliche Einsetzen der Pubertät von dem Beginn dieses Zusammenspiels bestimmt (FOX et al., 1970).

Während das Wachstum kontinuierlich verläuft, erfolgt das Einsetzen der Pubertät abrupt, noch bevor das endgültige Körpergewicht erreicht ist. Diese Tatsache deutet darauf hin, daß sexuelle Reife möglicherweise durch eine Verschiebung des bestehenden hormonellen Gleichgewichts ausgelöst wird. Der entscheidende Mechanismus dieses physiologischen Reifungsprozesses ist noch nicht abgeklärt.

EHRENREICH (1981) unternimmt den Versuch, aus den Ergebnissen zahlreicher Veröffentlichungen der Jahre 1973 - 1980 am Beispiel der weiblichen Ratte einen Überblick über die Ereignisse zu geben, die an dem Zustandekommen der Pubertät als beteiligt angesehen werden. Danach wird folgender der Reifung vorangehender Ablauf angenommen:

Die Steroidogenese der Gonaden wird bereits postpartal durch den Wegfall der mütterlichen Steroide und eine infolgedessen hohe Gonadotropinausschüttung des Neugeborenen angeregt. Die Steroide befinden sich ab dem 3. Lebenstag an α -Fetoprotein gebunden im Blut. Der Proteingehalt steigt bis zum 10. Tag an, bleibt bis zum 14. Tag auf hohem Niveau, sinkt dann ab und ist ab dem 20. oder 25. Tag nicht mehr nachweisbar. Freies Östrogen erhält zwischen dem 20. und 30. Lebenstag zunehmende Wirksamkeit. So wird durch die Anwesenheit der Steroide ein langsames Reifen des positiven Östrogen-Feedback-Mechanismus angenommen.

Die neurale Basis für die Funktion der negativen Rückkopplung wird bereits im Embryonalalter mit der Innervation der Eminentia mediana mit LHRH-Nervenendigungen angelegt; einer Freisetzung von LHRH und einer Erhöhung der Gonadotropinspiegel wirkt jedoch zu dieser Zeit noch der Einfluß der maternalen Steroide entgegen. Die Reifung des negativen Feedback-Mechanismus soll langsamer erfolgen als die des positiven. Zudem weisen nach den Recherchen EHRENREICHs der Gehalt des Hypothalamus an LHRH und die Empfindlichkeit der Hypophyse gegenüber diesem Hormon starke Veränderungen in Abhängigkeit vom Alter der juvenilen Tiere auf.

Während die im Alter von 10 - 20 Tagen im Serum auftretenden LH-peaks noch nicht unter dem Einfluß der negativen Rückkopplung stehen, füllen sich die LH-Speicher der Hypophyse zwischen dem 24. und 26. Lebenstag, was auf eine dann

bestehende strengere Kontrolle hindeutet. Zu diesem Zeitpunkt kann der Hohlweg-Effekt (HOHLWEG, 1934) als Nachweis für das Funktionieren der positiven Östrogen-Feedback-Wirkung durch exogene Applikation von Östrogenen ausgelöst werden. Als Folge der Erhöhung der freien Plasma-Östrogene ab dem 28. bis 35. Lebenstag soll der negative Rückkopplungsmechanismus noch stärker kontrollierend ausgerichtet sein.

EHRENREICH (1981) legt dem Eintreten der Pubertät u.a. eine zu diesem Zeitpunkt einsetzende Lockerung der vorher strengen negativen Feedback-Wirkung zugrunde, diese soll über eine Hemmung katecholaminerger Mechanismen erfolgen und bei dem Erreichen der Geschlechtsreife durch die Zunahme stimulierender dopaminerger Nervenendigungen, die in synaptischem Kontakt mit LHRH-Neuronen stehen, abgeschwächt werden.

Nach ANDREWS et al. (1981) scheint beim weiblichen Nager die Anwesenheit von α -Fetoprotein eine bedeutende Rolle bei der Fähigkeit des Tieres, zirkulierende Östradiolspiegel zu erkennen, und daher auch bei dem Eintritt der Pubertät zu spielen. CHAPPEL et al. (1983) halten dieses Bindungsprotein für den geschwindigkeitsbegrenzenden Schritt bei dem Reifungsprozeß.

Die Autoren führten Messungen des FSH bei prepubertalen weiblichen Ratten verschiedenen Alters, zur Zeit der Vaginalöffnung und am Morgen des Proöstrus durch. Dabei stellte sich heraus, daß die Hypophysenvorderlappen von Tieren vor dem

Zeitpunkt der Vaginalöffnung einen höheren Gehalt an FSH enthielten als die erwachsener Ratten. Ebenso erreichte der Serum-FSH-Gehalt jugendlicher Tiere höhere Werte als der geschlechtsreifer. Durch Gel-Elektrophorese wurde das gewonnene FSH in verschiedene Fraktionen getrennt: während vor der Vaginalöffnung sieben voneinander unterschiedliche Formen vorlagen, hob sich einer der Peaks nach diesem Zeitpunkt nicht mehr deutlich hervor. Neben der Abnahme des totalen hypophysären FSH-Gehalts zur Zeit der Vaginalöffnung wurde eine gleichzeitige Verschiebung in den relativen Anteilen der Fraktionen festgestellt. Eine anschließende radioimmunologische Untersuchung ergab, daß die Portionen, deren Anteil vor der Vaginalöffnung gering und nach diesem Zeitpunkt erhöht vorlag, eine höhere Rezeptor-Bindungsaktivität aufwiesen als die Vergleichsfraktionen.

Die Ergebnisse von CHAPPEL et al. (1983) deuten an, daß trotz des hohen Gesamt-FSH-Gehalts nur geringe Mengen (weniger als 10%) von biologisch aktivem FSH in den Hypophysen juveniler weiblicher Ratten vorliegen und daß zur Zeit der Vaginalöffnung ein endokriner Vorgang stattfindet, der bei Abnahme des Gesamt-FSH die Produktion größerer Mengen biologisch aktiver Formen des FSH stimuliert. Als möglichen Mechanismus der FSH-Aktivierung nennen die Autoren Veränderungen der Sialinsäurereste innerhalb des Proteohormons, die die Plasma-Halbwertszeit (PECKHAM et al., 1976) und Rezeptor-Bindungsaktivität (MOORE et al., 1980) beeinflussen sollen.

Eine ähnliche Verschiebung in biologisch aktive Formen von LH soll zur Zeit der Pubertät bei Frauen und Männern gefunden worden sein (LUCKY et al., 1980; REITER et al., 1982).

Über Abnahmen des hypothalamischen LHRH-Gehalts und erhöhte LHRH-Sekretion zur Zeit der Vaginalöffnung wird von ARAKI et al. (1975) und SARKAR et al. (1979) berichtet. Aus den Befunden, daß LHRH den Kohlenhydrat-Einbau in das LH-Molekül von Nagern beschleunigen soll (LIU et al., 1979) und Gonadotropine, die nach LHRH-Einfluß aus dem Hypophysenvorderlappen freigesetzt werden, eine größere biologische Aktivität aufweisen sollen (MUKHOPADHYAY et al., 1979), folgern CHAPPEL et al. (1983), daß dieses Neurohormon einen auslösenden Faktor in der Verschiebung des FSH-Profiles zur Zeit der Vaginalöffnung darstellen kann.

Die Beteiligung endogener Opiate an der Induktion der Pubertät und an der Reproduktion

Hinweise auf die Einflußnahme endogener Opiate auf das Fortpflanzungsgeschehen gehen aus den Ergebnissen zahlreicher Untersuchungen hervor. Nach ihrer Entdeckung 1975 durch HUGHES und KOSTERLITZ und ihrer weiteren Differenzierung wurde die vorwiegende Lokalisation von β -Endorphin in dem Hypophysenvorder- und -zwischenlappen, dem Hypothalamus mit der Eminentia mediana der Neurohypophyse sowie u.a. in der Area preoptica und den Amygdala festgestellt, während

die höchsten Konzentrationen der in fast allen Gehirnregionen verbreiteten Enkephaline u.a. in der Pars neurointermedia der Hypophyse, der Eminentia mediana, dem Hypothalamus, im Limbischen sowie im extrapyramidalen System vorliegen sollen. Im Gegensatz dazu soll sich die Verteilung der Opiatrezeptoren im ZNS vor allem auf den Hirnstamm, das limbische System und die Neurohypophyse erstrecken; ihr Vorkommen in der Peripherie wurde am sympathischen Nervensystem einschließlich Nebennierenmark und -rinde, dem Kreislaufapparat sowie verschiedenen inneren Organen, darunter auch den männlichen Geschlechtsorganen und Plazentaextrakten festgestellt. Darüberhinaus wird über das Vorhandensein verschiedener Opiatrezeptor-Typen berichtet (BLOOM, 1981).

Unter Zugrundelegung dieser Erkenntnisse konnten mit Experimenten, bei denen Versuchstieren exogen Morphin bzw. Morphin-derivate zugeführt worden waren, Hinweise auf die Einflußnahme endogener Opiate auf bestimmte Funktionen des Organismus erhalten werden. Sofern sich die so hervorgerufenen Effekte durch Applikation eines Morphinantagonisten wie z.B. Naloxon aufheben lassen, kann auf eine Beteiligung der Opiatrezeptoren, die je nach Versuchsanordnung von Morphinagonisten oder -antagonisten besetzt worden sind, geschlossen werden. Sichtbaren Reaktionen auf die alleinige Verabreichung eines Morphinantagonisten kann darüberhinaus die physiologische Beteiligung endogener Opiate an der untersuchten Funktion zugrundegelegt werden, da sie ja vor ihrer experimentellen Verdrängung von den Rezeptoren wirksam gewesen sein müssen.

Neben der Wechselwirkung mit verschiedenen Neurotransmittern sowohl im ZNS als auch in der Peripherie wird den endogenen Opiaten eine bedeutende Funktion bei der Steuerung hormoneller Vorgänge, vor allem im Bereich des Hypothalamus und der Hypophyse mit Einflußnahme auf die Sekretion von u.a. Gonadotropinen, Prolaktin und ACTH zugeschrieben. Durch das Eingreifen in übergeordnete neuroendokrine Steuerungssysteme sollen sie sowohl eine tonische Kontrollfunktion ausüben als auch möglicherweise durch situationsabhängige Modulierung der jeweiligen Vorgänge Einfluß nehmen können. So wird eine ursächliche Beteiligung der Opioide an dem Mechanismus des negativen Steroid-Feedback wie auch an der nach endo- oder exogenen Stimuli (Streß, Pubertät) eintretenden Veränderung der Sensibilität dieses Rückkopplungs-Systems für möglich gehalten (EHRENREICH, 1981).

Bei der Induktion der Pubertät könnte dem mit der Anwesenheit von Opioiden verbundenen Phänomen der Toleranzentwicklung eine physiologische Bedeutung zukommen. Da in beiden Fällen eine Gleichgewichtsverschiebung innerhalb der beteiligten Mechanismen erfolgt, zieht EHRENREICH (1981) eine Verknüpfung beider Systeme in Betracht.

Bei Ratten kann durch Morphingabe die Ovulation verhindert werden (BARRACLOUGH et al., 1955), während dieser Effekt nach anschließender Naloxonbehandlung aufgehoben wird (PACKMAN et al., 1976) und die Reproduktionsleistung nach alleiniger Verabreichung von Naloxon gesteigert werden kann, die

sich in einer Zunahme des Uterus- und Ovargewichts (MARTON et al., 1981) und der Anzahl der ovulierten Follikel (YASUKAWA et al., 1978) bei unveränderten Befunden der Vaginalepithelien (BLANK et al., 1979) ausdrückt. Die antiovulatorische Wirkung von Morphin soll über die Blockierung des Gonadotropin-Peak und damit der positiven Östrogen-Feedback-Aktion erfolgen, die wiederum möglicherweise auf einer morphininduzierten Hemmung der LHRH-Sekretion beruht, da eine elektrische Stimulierung der Eminentia mediana die Morphinwirkung aufzuheben vermag (SAWYER, 1963). Naloxon scheint die Freisetzung von LHRH zu stimulieren, die sich in einem schnellen LH- und einem verzögerten FSH-Anstieg der Serumkonzentrationen bemerkbar machen soll. Eine direkte blockierende Wirkung endogener Opiate auf die LH-Freisetzung halten CICERO et al. (1979, 1980) für unwahrscheinlich, da der Morphineffekt auf LH bei Anwesenheit von LHRH nicht hervorgerufen werden kann.

Die Beteiligung endogener Opiate an der Prolaktinkontrolle wurde von BRUNI et al. (1977) bei Ratten nachgewiesen. Ebenfalls über eine Anregung der Prolaktinausschüttung sollen sie eine abschwächende Wirkung auf die Testosteronsynthese bei männlichen Ratten hervorrufen (GOLDBERG et al., 1980).

Männliche Ratten reagieren auf Naloxonbehandlung mit einer Erhöhung der Serum-LH- und Testosteronkonzentrationen, wobei der Effekt bei jungen Tieren verstärkt auftreten soll (STEGER et al., 1980). Auch eine Veränderung des Kopulationsverhal-

tens männlicher Ratten kann β -Endorphin hervorrufen: erhöhte Reaktionszeit sowie nur schwache Ansätze, den Partner zu bespringen, wurden bei ungestörtem Präkopulationsverhalten beobachtet, während der Effekt durch Naloxon verhindert werden konnte (MEYERSON et al., 1977). VAN VUGT et al. (1978) und MEITES et al. (1979) halten die physiologische Funktion endogener Opiate in einer tonischen Hemmung der LH-Sekretion für möglich.

Aus der Beobachtung, daß der Hypothalamus alter männlicher Ratten einen erhöhten Met-Enkephalingehalt aufweist (STEGEER et al., 1980), äußert EHRENREICH (1981) die Vermutung, daß möglicherweise endogene Opiate das Substrat des sich dann strenger einstellenden Gonaden-Steroid-Feedback darstellen. Daraus folgernd wird dargelegt, daß diese Situation auf junge (puberale) Tiere ebenfalls zutreffen könnte.

Bei präpuberale weiblichen Ratten wird die LH-Sekretion nach Naloxon gesteigert, allerdings nicht in allen Entwicklungsstadien, während eine Wirkung auf adulte Tiere nicht hervorgerufen werden konnte (BLANK et al., 1979). Daß dagegen bei männlichen Ratten in der Pubertät sowie im späteren Alter deutliche Reaktionen auf Naloxon-Verabreichung auftreten, deutet sowohl auf einen geschlechtsbedingten Unterschied in der Feedback-Organisation hin als auch auf die Wahrscheinlichkeit einer steroidabhängigen Opioidbeteiligung an diesen Ereignissen.

Die Steuerung von Pubertät und Reproduktion auf neurosekretorischer Ebene

Nach KMENT (1976) übt das Zentralnervensystem steuernden Einfluß auf das Endokrinium der Wirbeltiere aus. So übernimmt es einerseits die Erregungsübermittlung von externen Reizen (Licht, Temperatur, Traumen) zu der Hypophyse, wobei z.B. der zirkadiane Rhythmus des Zyklusgeschehens vermittelt wird, andererseits die Integrierung von Impulsen aus dem "milieu intérieur" (emotionelle und psychische Prozesse) und induziert auf diese Weise aus diesen Reizen resultierende endokrine Umstellungen. Das ZNS soll ebenfalls den Reifungsprozeß von Anteilen des endokrinen Systems z.B. bei der Geschlechtsreife modulieren können.

Das wesentliche neurosekretorische System ist der Tractus hypothalamo-hypophyseus mit den hauptsächlichsten neurosekretorischen Kernen, dem Nucleus supraopticus und dem Nucleus paraventricularis. Von hier aus ziehen Nervenfasern in die zwei Hämalorgane, die Pars nervosa und die Eminentia mediana der Hypophyse. Während die Pars nervosa der Neurohypophyse mit einer selbständigen Blutversorgung ausgestattet ist, unterliegt der andere Teil der Neurohypophyse, die Eminentia mediana, der gemeinsamen Blutversorgung mit der Adenohypophyse. Die Eminentia mediana ist der Ort, an dem die Terminalien der neurosekretorischen Neurone der hypophyseotropen Gebiete des Hypothalamus in engen Kontakt kommen mit dem primären Kapillarplexus des hypophysären Portalsystems, um Neurohormone freizusetzen, die auf dem Blutweg weiter über die

Portalgefäße in die Sinusoide, die den sekundären Kapillarplexus im Hypophysenvorderlappen bilden, transportiert werden. Diese Sinusoide wiederum stehen in engem Kontakt mit den Zellen des Hypophysenvorderlappens (KOVACIC, 1970).

Nach EHRENREICH (1981) sollen die die basale Gonadotropinfreisetzung steuernden Mechanismen des negativen Östrogen-Feedback vor allem im mediobasalen Hypothalamus lokalisiert sein, während die zyklische Gonadotropinfreisetzung und damit der positive Östrogen-Feedback-Mechanismus vornehmlich in Bereichen der Area preoptica, suprachiasmatica et anterior hypothalami gesteuert wird.

Der Ursprung der in die Eminentia mediana einlaufenden LHRH-enthaltenden Neurone ist teilweise ungeklärt; ihre Perikaryen sollen im wesentlichen im mediobasalen Hypothalamus und der Area preoptica vorliegen. Ebenso ist noch unklar, welche Neurotransmitter an der Steuerung der LHRH-Freisetzung beteiligt sind.

Nach einer von EHRENREICH (1981) zusammengestellten Hypothese soll sowohl die basale als auch die zyklische LHRH-Sekretion durch noradrenergen Tonus aufrechterhalten werden. Der Noradrenalin-Turnover soll zur Zeit des negativen Östrogen-Feedback über präsynaptische Hemmung niedrig gehalten und die Hemmung bei Einsetzen des positiven Östrogen-Rückkopplungseffektes aufgehoben werden.

Die Entladung cholinerger Neurone, die in synaptischem Kontakt mit tuberoinfundibulären dopaminergen Neuronen stehen, soll zur Dopaminausschüttung führen. Die dopaminergen Terminationen sollen wiederum axo-axonalen Kontakt mit den LHRH-Neuronen in der Eminentia mediana aufweisen. Dopamin soll Depolarisation und Freisetzung von LHRH bewirken. Die Empfindlichkeit der LHRH-Neurone gegenüber Dopamin soll von der Anwesenheit von Steroiden abhängig sein, ebenso wie Prostaglandine die katecholaminerge Kontrolle der LHRH-Sekretion vermitteln sollen.

Im Gegensatz dazu soll Serotonin eine LHRH-hemmende Funktion ausüben, die wiederum möglicherweise östrogenabhängig moduliert werden kann.

Neben den genannten Neurotransmittern könnten Histamin, γ -Aminobuttersäure (GABA) sowie verschiedene Substanzen mit Peptidstruktur an der LHRH-Regulation beteiligt sein.

Die Prolaktinsekretion soll durch Dopamin inhibiert und durch Serotonin induziert werden, während Noradrenalin hier situationsabhängig hemmende und fördernde Einflüsse ausüben kann.

Die Freisetzung der Neurotransmitter unterliegt wiederum übergeordneten Kontrollsystemen. Bei der Untersuchung der Prolaktin-Steuerung wurde festgestellt, daß Östrogene auf die hemmenden Dopamineffekte inhibierende Wirksamkeit aufweisen und so die Prolaktinstimulation hervorrufen. Als Ort

der Östrogen-Dopamin-Interaktionen werden dopaminerge Neurone im hypothalamischen tuberoinfundibulären Bereich sowie dem limbischen System unter Beteiligung der Amygdala angenommen.

Endogene Opiate scheinen ebenfalls an der Steuerung der Neurotransmitteraktivität beteiligt zu sein, indem sie vorwiegend hemmenden Einfluß ausüben.

Untersuchungsergebnisse von ROTSZTEJN et al. (1978) zeigen, daß im Bereich der Eminentia mediana agierende endogene Opiate die LHRH-Freisetzung nicht direkt angreifen, sondern eher die Fähigkeit der neurosekretorischen Neurone, auf Dopaminstimulation zu antworten, beeinflussen. EHRENREICH (1981) äußert die Vermutung, daß sich entweder an LHRH-Nervenendigungen sowohl Dopamin- als auch Opiatrezeptoren unabhängig voneinander befinden oder daß die dopaminergen Terminalien opiatrezeptive Bindungsstellen aufweisen. Die Möglichkeit, daß endogene Opiate von den Amygdala aus Einfluß auf die Gonadotropinsekretion ausüben, scheint nach den Untersuchungsergebnissen PARVIZIs et al. (1980) zu bestehen.

Es wird angenommen, daß auch die prolaktinstimulierende Wirkung der endogenen Opiate über eine Reduktion der Dopaminaktivität in der Eminentia mediana oder über eine Steigerung der Serotonin-Sekretion, d.h. über die Aufhebung hemmenden oder die Förderung stimulierenden Neurotransmittereinflusses erfolgt.

Während klassische Neurotransmitter wie die Katecholamine sowie Serotonin auf ihre Zielzelle entweder durch Depolarisation des Membranpotentials erregend oder durch ihre Hyperpolarisation hemmend wirken, besteht der Wirkungsmechanismus von Peptidtransmittern in einer Dämpfung der Erfolgszelle, so daß sie seltener auf andere ankommende Signale anspricht, ohne nennenswerte Spannungsänderungen an der Membran hervorzurufen (BLOOM, 1981).

Endogenen Opiaten, die unter dem Gesichtspunkt ihrer vorangehend aufgeführten Funktionsweisen den Peptidtransmittern zugeordnet werden können, wird allgemein präsynaptisch hemmender Einfluß auf sensible afferente Fasern im Rückenmark und Hirnstamm sowie auf dopaminerge Neurone zugeschrieben. Als möglicher Wirkungsmodus wird eine Beeinträchtigung der Ca^{2+} -Aufnahme durch die Terminalien angenommen; die Anwesenheit von Ca^{2+} stellt eine Voraussetzung für die Fähigkeit der Neurone zu der Neurotransmitterfreisetzung dar.

Während die Synthese von Monoamintransmittern in wenigen Schritten erfolgt, deren Aufbewahrung in Vesikeln sowie eine Wiederaufnahme in die Zelle nach erfolgter Freisetzung möglich ist und mit diesem System die Gewährleistung einer relativ raschen Bereitstellung der Transmittersubstanzen besteht, erfordert die Synthese eines Peptidtransmitters, die ja unter Beteiligung der Ribonucleinsäuren im Zellkern weit entfernt von ihrem Einsatzort, den Terminalien, erfolgt, weit aus größeren Zeit- und Energieaufwand.

Da aber anscheinend einige Nervenzellen beide Transmitterarten ausschcheiden können (BLOOM, 1981) und es der Sinn einer jeden Botensubstanz ist, die Aktivität der Zellen so aufeinander abzustimmen, daß ein Organismus angemessen auf seine Umwelt reagiert, deuten die genannten Ergebnisse auf eine abgestimmte Wechselwirkung hin zwischen der unterschiedlichen Wirkungsweise der endogenen Opiate und der der klassischen Neurotransmitter in einer gemeinsamen Kontrolle des Reproduktionssystems.

Der Einfluß von Neurotransmittern auf die Induktion der Pubertät stellt sich nach EHRENREICH (1981) wie folgt dar: Die Gleichgewichtseinstellung des negativen Steroid-Feedback im prepuberalen Zustand steht unter der Kontrolle hemmender katecholaminerger Mechanismen. Die Pubertät setzt ein mit der Abschwächung dieses Rückkopplungseffektes; diese wird durch die Zunahme der die LHRH-Neurone stimulierenden dopaminergen Nervenendigungen hervorgerufen. Eine Umschaltung inhibitorischer Nervenbahnen, die von übergeordneten Zentren (z.B. Amygdala) den Hypothalamus erreichen, wird daneben für möglich gehalten.

Die Beeinflussung der Neurotransmittersynthese durch das Angebot ihrer Vorstufen - der Einfluß von Tyrosin auf die Synthese der Katecholamine

Nach Untersuchungen von WURTMAN et al. (1981) besteht die Möglichkeit, daß die Geschwindigkeit, mit der bestimmte Neurone ihre Neurotransmitter bilden und freisetzen, durch das Angebot ihrer Vorstufen verändert werden kann, überraschenderweise sogar durch Veränderungen ihrer Plasmazusammensetzung. Die Aussage soll Gültigkeit besitzen für die im Gehirn anwesenden Katecholamine sowie für Serotonin und Acetylcholin, deren Substrate Tyrosin, Tryptophan und Cholin bzw. Lezithin dem Organismus gewöhnlich als Nahrungsbestandteile zugeführt werden.

Die Autoren nehmen an, daß so fast alle Neurotransmitter-Amine durch die Verfügbarkeit ihrer Vorstufen in der Geschwindigkeit ihrer Freisetzung beeinflußt werden können; dagegen erscheine eine Abhängigkeit der Synthese von Peptid-Transmittern von den Plasmakonzentrationen ihrer verschiedenen Aminosäuren-Bausteine unwahrscheinlich.

In der vorliegenden Arbeit wird auf die mögliche Wechselwirkung zwischen Tyrosin und den Katecholaminen Noradrenalin und Dopamin eingegangen.

Tyrosin wird nicht den essentiellen Aminosäuren zugeordnet, da ihre Synthese aus Phenylalanin in der Leber und in begrenzter Menge auch im Gehirn (IKEDA et al., 1965) möglich

ist. Phenylalanin stellt jedoch selbst eine essentielle Aminosäure dar, und ihre Umwandlung in Tyrosin ist möglicherweise nicht ausreichend, um den Bedarf des Organismus an Tyrosin nicht nur als Baustein für Neurotransmitter oder Proteine, sondern u.a. auch als Bestandteil der Schilddrüsenhormone, des Ubichinons und des Melanins zu decken. So besteht dennoch die Notwendigkeit der Anwesenheit von Tyrosin in der zugeführten Nahrung.

Die Fähigkeit der Nahrungszusammensetzung zu ihrem Einfluß auf die Neurotransmittersynthese setzt das Vorliegen bestimmter physiologischer bzw. biochemischer Mechanismen voraus, die die Weiterleitung der Informationen über das aktuelle Angebot der zirkulierenden Vorstufe an die reagierenden Neurone zulassen und nicht durch ausgleichende Gegenregulierungsvorgänge hemmen.

Die erste Voraussetzung besteht darin, daß die Plasmakonzentration der enteral aufgenommenen Aminosäure einer nicht zu strengen Feedback-Kontrolle unterliegt, und wird durch das Auftreten postprandialer Veränderungen, die von der Nahrungszusammensetzung abhängig sind, erfüllt. Sehr starke Schwankungen scheinen dagegen durch ihre Aktivierung aus Metaboliten-Pools, z.B. Gewebeproteinen, gedämpft werden zu können.

Ein zweites notwendiges Phänomen ist das Vorhandensein von Mechanismen in der Blut-Hirn-Schranke, die den in der extrazellulären Gehirnflüssigkeit befindlichen Vorstufenmolekülen

erlauben, sich den Konzentrationen in der Zirkulation anzugleichen.

PARDRIDGE et al. (1977) beschreiben einen gemeinsamen Transportmechanismus für große neutrale Aminosäuren (LNAA) wie Tryptophan, Tyrosin und Threonin, die verzweigtkettigen Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Valin sowie für Methionin. Das Transportsystem soll weder Energie erfordern noch einen Konzentrationsgradienten aufrechterhalten können; es soll vielmehr dazu dienen, die Diffusion der Substrate aus dem Blut in das Gehirn oder einen entgegengesetzten Efflux zu erleichtern. Da ein einziger Mechanismus die Aufnahme aller LNAA in das Gehirn vermittelt bei einer Michaeliskonstanten, die etwa ihrer Plasmakonzentration entspricht, scheint eine Konkurrenz der einzelnen Aminosäuren um den Transport zu bestehen. Die Autoren folgern daraus, daß die Aufnahme von zirkulierendem Tyrosin in das Gehirn sowohl durch die Erhöhung des Tyrosin-Plasmaspiegels als auch durch die Herabsetzung der Konzentrationen anderer LNAA beschleunigt werden kann; es ist also das Verhältnis ausschlaggebend, in dem Tyrosin, bezogen auf die Summe der Konzentrationen aller LNAA in der Zirkulation vorliegt.

Dieses Verhältnis kann beispielsweise unter dem Einfluß von Insulin verändert werden. Insulin bewirkt eine Senkung der Plasma-Aminosäuren-Konzentrationen durch deren beschleunigte Aufnahme in den Skelettmuskel; da jedoch primär die verzweigtkettigen LNAA Leucin, Isoleucin und Valin im Muskel metabolisiert werden, resultiert daraus eine Erhöhung des

Anteils der aromatischen LNAA Tyrosin und Tryptophan (das sich zudem meist an Albumin gebunden dem Insulineinfluß entzieht) bei einem generellen Absinken des Plasma-Aminosäuren-Gehalts. Diese Annahme wird durch Untersuchungen von MAURON et al. (1982) bestätigt, in denen festgestellt wurde, daß die enterale Applikation einer bestimmten Glucosemenge gemeinsam mit Tyrosin den durch Tyrosin hervorgerufenen Effekt sowohl auf das Plasma-Tyrosin/LNAA-Verhältnis als auch auf den Gehirn-Tyrosin-Gehalt verstärken kann.

Während also die Verabreichung einer großen Tyrosinmenge zu einer Erhöhung des Gehirn-Tyrosinspiegels bei gleichzeitiger Reduktion der Mengen anderer LNAA führt, kann in umgekehrter Weise eine hohe Tryptophan-Dosis den Gehalt an Tyrosin im Gehirn verringern und dadurch möglicherweise die zentrale katecholaminerge Erregungsübertragung beeinträchtigen (WURTMAN et al., 1974).

Daß die Anwendung reiner Aminosäuren, um eine gesteigerte Neurotransmittersynthese herbeizuführen, jedoch nicht auf Kosten einer angemessenen Proteinernährung erfolgen muß, zeigen Untersuchungen von MELAMED et al. (1980), nach denen die zusätzliche Aufnahme von Tyrosin (100 mg/kg) zu drei aufeinanderfolgenden Mahlzeiten die Plasmatyrosinkonzentrationen sowie ihren relativen Anteil auch in Gegenwart der Nahrungsaminosäuren erhöhte.

Ein dritter Faktor, der wirksam sein muß, um einen Einfluß der Plasmazusammensetzung auf die Neurotransmittersynthese

hervorzurufen, betrifft die Kinetik der Aufnahme der Vorstufen aus der Zirkulation in das Gehirn und ihren weiteren Eintritt in die entsprechenden Neurone.

Wenn die Affinität des Carriers zu seinem Liganden so hoch wäre, daß der Carrier bei normalen Plasma-Vorstufenkonzentrationen voll gesättigt vorläge, könnten weitere Anstiege der Vorstufenmengen keinen Effekt auf eine Erhöhung des Transports hervorrufen. So postulieren WURTMAN et al. (1981) das Vorliegen einer geringen Affinität des Carriers für sein Substrat; sie wird für das LNAA-Transportsystem in das Gehirn durch die Ergebnisse von PARDRIDGE (1977) bestätigt.

Untersuchungen von MORRE et al. (1980, 1981) zeigen, daß die Aufnahme von Tyrosin in isolierte Gehirnnervenendigungen durch zwei Mechanismen erfolgen kann; beide transportieren LNAA kompetitiv. Bei physiologischen Konzentrationen soll mindestens die Hälfte des Tyrosins, das aus der Extrazellulärflüssigkeit des Gehirns zu den Nervenendigungen gelangt, dem Weg des Mechanismus mit geringer Affinität folgen. Die Autoren beschreiben das Vorkommen dieser neuronalen Aufnahmemechanismen in allen Gehirnregionen, wobei jedoch die größten Konzentrationen annähernd parallel der Verteilung der Katecholamin-Terminalien vorliegen sollen.

Die vierte Voraussetzung, daß das Schlüsselenzym, das die Geschwindigkeit der Neurotransmittersynthese aus Tyrosin bestimmt, ebenfalls unter physiologischen Bedingungen nicht

voll gesättigt sein darf, wenn es bei erhöhtem Substratan-
gebot mit einer gesteigerten Transmitterproduktion reagieren
soll, scheint durch die Untersuchungsergebnisse von CARLSSON
et al. (1978) ebenfalls bestätigt werden zu können.

Wesentlich komplizierter gestaltet sich der Nachweis der von
WURTMAN et al. (1981) geforderten letzten Voraussetzung, die
erfüllt sein muß, damit ein gesteigertes Substratangebot
tatsächlich eine Erhöhung der Neurotransmitterfreisetzung ver-
anlassen kann: das Fehlen oder eine nur schwache Reaktion
eines hemmenden Feedback-Mechanismus auf das geschwindigkeits-
begrenzende Enzym, die durch das Endprodukt, den Neurotrans-
mitter, hervorgerufen wird.

Wie unter Berücksichtigung allgemeingültiger physiologischer
Enzymregulationsmechanismen erwartet werden kann, steht die
Aktivität des Enzyms Tyrosin-Hydroxylase unter dem Einfluß
der Produkthemmung. Sie wurde in vitro 1964 (NAGATSU et al.)
und 1974 in vivo (LOVENBERG et al.) nachgewiesen an Tieren,
denen MAO-hemmende Substanzen verabreicht wurden, um die
Katecholaminspiegel zu erhöhen.

Ebenso scheinen Wechselwirkungen zwischen den in den synap-
tischen Spalt freigesetzten Transmittermolekülen mit präsy-
naptischen dendritischen Autorezeptoren zu bestehen, die
hemmend auf das Ursprungsneuron einwirken. Darüberhinaus
wird die Wirkung hemmender Feedback-Aktionen durch multisy-
naptische Reflexbögen für wahrscheinlich gehalten (WURTMAN
et al., 1981).

Ungeachtet der Aussage zu der intra- und extrazellulären Feedback-Kontrolle der Tyrosin-Hydroxylierung konnte in mehreren Untersuchungen festgestellt werden, daß das aktuelle Tyrosin-Angebot dennoch die Synthese und den Umsatz der Katecholamine Dopamin und Noradrenalin unter bestimmten Bedingungen zu steigern vermag. Den einzelnen Untersuchungen lagen die unterschiedlichsten Versuchsbedingungen zugrunde; ihre Gemeinsamkeit bestand darin, daß die Tyrosin-induzierte Neurotransmittersynthese immer dann beobachtet werden konnte, wenn gleichzeitig eine Aktivierung der katecholaminergen Neurone experimentell hervorgerufen worden war.

So bewirkte Tyrosin eine Senkung des Blutdrucks bei spontan hypertensiven Ratten (SVED et al., 1979), während es bei hypotensiven Tieren, die experimentell in den Zustand des hämorrhagischen Schocks versetzt worden waren, eine Erhöhung des Blutdrucks hervorrief (CONLAY et al., 1979). Dagegen ergab sich keine blutdruckverändernde Wirkung nach Tyrosin-Verabreichung an normotensive Ratten (SVED et al., 1979).

Behandlungen, die den Blutdruck erhöhen, beschleunigen die Freisetzung von Noradrenalin aus Neuronen des Hirnstamms, die im vorderen Hypothalamus enden (PHILIPPU et al., 1980) und wahrscheinlich ebenso die Feuerfrequenz noradrenerger Neurone in diesem Gebiet, während Maßnahmen, die Hypotension erzeugen, sympathoadrenale Strukturen und katecholaminerge Endigungen im hinteren Hypothalamus aktivieren (SINHA et al., 1980).

WURTMAN et al. (1981) deuten den paradoxen Effekt von Tyrosin, den Blutdruck in Abhängigkeit von dem vorliegenden physiologischen Zustand zu erhöhen oder zu senken, indem sie davon ausgehen, daß in der Situation des hypertensiven Tieres die Vorstufe die Noradrenalin-Freisetzung in einem Gebiet der Hirnstamm-Neurone selektiv zu erhöhen vermag, weil diese gerade aktiviert sind, während im Schock periphere sympathische Neurone und adrenomedulläre Zellen aktiviert und damit Tyrosinempfindlich werden.

Ähnliche Beziehungen zwischen dem Ausmaß, in dem Vorstufen wirksam sind, und aktueller Feuerfrequenz der Neurone konnten in nigrostriatalen dopaminergen Neuronen und in präganglionären sympathischen cholinergen Neuronen beobachtet werden.

So scheinen kurzzeitig auftretende physiologische Bedingungen, die die Feuerfrequenz der vorstufenabhängigen Neurone beschleunigen, die Feedback-Mechanismen überwinden zu können, die andernfalls die Konstanz der Neurotransmitterfreisetzung aufrechterhalten würden, und dem Neuron zu erlauben, das Vorstufenangebot mit der Transmitterfreisetzung zu kombinieren. An dem hypothetischen Mechanismus, der die Frequenz der neuronalen Depolarisation mit der Reaktionsfähigkeit auf Tyrosin verbindet, soll möglicherweise die Aktivierung eines Enzyms, die Unterdrückung der hemmenden Wirkung eines Autorezeptors oder der Effekt eines Ions, dessen Fluß durch Depolarisation beeinträchtigt wird, beteiligt sein.

Wirkungen von Tyrosin auf Situationen, die mit dem Fortpflanzungsgeschehen in Zusammenhang stehen, scheinen bisher selten untersucht worden zu sein. SVED et al. (1979) beschreiben eine nach Tyrosingabe auftretende Herabsetzung erhöhter Prolaktin-Serumspiegel, die durch vorangegangene Reserpinbehandlung bei Ratten hervorgerufen worden waren, während Tyrosin keinen Einfluß auf die Serumprolaktinkonzentration unbehandelter Tiere aufweisen soll. Daß die Aktivierung dopaminerger Neurone in der Eminentia mediana und ein anschließender Anstieg der Dopaminsekretion in die Hypophysen-Portalgefäße dem prolaktinspiegelsenkenden Effekt von Tyrosin zugrundeliegen, wird unterstützt durch das Ergebnis, daß Tyrosin hypothalamische Metabolitenspiegel von Dopamin (Homovanillinsäure) bei chronisch reserpinisierten Tieren signifikant erhöhte, nicht dagegen bei unbehandelten Kontrollratten.

Die Aminosäure Tryptophan, von der angenommen wird, daß sie über die Erhöhung der Serotoninaktivität eine Tyrosin-Katecholamin-antagonisierende Funktion ausüben kann, wurde an Goldhamster verabreicht, die sich in einem photorefraktären Stadium befanden, mit dem Ergebnis, daß diese Tiere sich anschließend analog zu physiologischen Bedingungen im Herbst vor dem Beginn des Winterschlafs photoreaktiv auf abnehmende Tageslängen verhielten, was sich in der Regression der Gonaden und Veränderung der Fettspeicher ausdrückte (WILSON et al., 1983).

Nachdem mit den vorstehend beschriebenen Versuchsergebnissen lediglich Einzelschritte der hypothetisch geforderten Beziehungen zwischen Aminosäuren als Neurotransmittervorstufen und deren letztendliche Wirkung auf die Reproduktion nachgewiesen werden konnten, verdeutlichen die Resultate WILSONS (1983) den vollständigen Weg der Wirkung der Vorstufe über die Aktivitätserhöhung des Transmitters und dessen anschließenden Einfluß auf die hormonalen Zustände des Fortpflanzungsgeschehens, die schließlich in einer Beeinträchtigung des Reproduktionszyklus sichtbar werden.

Mögliche Zusammenhänge zwischen Streß und den die Pubertät bzw. Reproduktion steuernden Mechanismen

Vor dem 20. Lebenstag kann experimentell verursachte Streßeinwirkung bei Ratten noch keine adäquaten Reaktionen des Organismus hervorrufen; die Reifung des entsprechenden Mechanismus scheint erst kurz vor dem Einsetzen der Pubertät vollzogen worden zu sein. Ebenfalls vor dem Beginn der Pubertät ist das Stadium der Adrenarche zu beobachten, in dem eine gesteigerte Steroidsekretion (Östron, Androstenedion) durch die Nebenniere erfolgt. Diese Befunde deuten darauf hin, daß das streßverarbeitende System für die Induktion der Pubertät von Bedeutung sein könnte.

Die primäre Streßantwort des Organismus besteht in der vermehrten Sekretion des hypophysären Hormons ACTH. Sie wird bei Vorliegen von emotionellem Streß unter Einschaltung der Emi-

nentia mediana vorwiegend aus dem Bereich des Nucleus amygdalae induziert, während ein z.B. durch Verletzungen hervorgerufener Streß unter Einbeziehung der Formatio reticularis vermittelt wird.

Die Vorstufe von sowohl ACTH als auch β -Endorphin stellt das gemeinsame Prohormon Proopiocortin dar, womit die Beobachtung, daß β -Endorphin unter Streßeinwirkung gemeinsam mit ACTH in etwa äquimolarer Menge ausgeschieden wird, eine Erklärung findet. Aus diesen Befunden und aus der Tatsache, daß Morphin selbst als klassischer Stressor eine Erhöhung der zirkulierenden ACTH-, Prolaktin- und β -Endorphin-Konzentrationen zu induzieren vermag, geht hervor, daß endogene Opiate möglicherweise eine bedeutende Funktion in der Streßantwort des Organismus besitzen.

In der 5. bis 10. Lebenswoche, also zu der Zeit, in der die sexuelle Reife erreicht wird, soll der Gehalt der Hypophysen von Ratten an β -Endorphin stark ansteigen. Dieser Befund deutet ebenfalls auf eine Wechselwirkung zwischen den Mechanismen der Streßverarbeitung und der Induktion der Pubertät hin, da an beiden endogene Opiate modulierend beteiligt sein können.

YASUKAWA et al. (1978) schließen aus ihren Untersuchungsergebnissen, daß ACTH sowie möglicherweise β -Endorphin einen tonisch hemmenden Effekt auf die Reproduktion ausüben.

HULSE et al. (1982) konnten die ovulationshemmende Wirkung von Streß auf mit PMSG vorbehandelte weibliche präpuberale Ratten nachweisen. Ihre anschließende Beobachtung, daß dieser Effekt durch die vorhergehende Verabreichung von Naloxon-Hydrochlorid aufgehoben werden kann, impliziert die Beteiligung endogener Opiate an der streßbedingten Hemmung der Reproduktion.

Diese Ausführungen verdeutlichen, daß ein Organismus zur Zeit der Pubertät einer Situation ausgesetzt ist, in der nicht allein die Stabilität der sexualhormonellen Steuerungsmechanismen sondern auch die Fähigkeit des Organismus, exogene wie endogene Reize zu verarbeiten, starken Veränderungen unterliegt. Da endogene Opiate gerade dann modulierende Effekte ausüben sollen, wenn eine Verschiebung oder Beeinflussung eines Gleichgewichtszustandes erfolgt (z.B. des negativen Feedback-Mechanismus bei der Induktion der Pubertät; Toleranztheorie) kann davon ausgegangen werden, daß mit der Versuchsanordnung der vorliegenden Arbeit Bedingungen geschaffen werden, unter denen die Wirksamkeit endogener Opiate an den untersuchten Kriterien deutlich hervortreten müßte.

Eine Gleichgewichtsverschiebung der endokrinen Vorgänge, wie sie durch Streß hervorgerufen wird, könnte auch die hier hypothetisch geforderte Beteiligung der katecholaminergen Neurone, verdeutlicht durch die Verabreichung ihrer Transmitter-Vorstufe Tyrosin, an der Induktion der Pubertät sowie der Beeinflussung der Reproduktionsrate, wesentlich stärker

in Erscheinung treten lassen als in Situationen mit einem stabilen endokrinen Status. Denn gerade bei der Veränderung der Geschwindigkeit feuernder Neurone könnte die Verfügbarkeit der Transmitter-Vorstufe Tyrosin einen wirkungsbegrenzenden Faktor bei der Neurotransmitteraktion darstellen, bzw. gerade dann könnte die Antwort des Systems der endogenen Opioide möglicherweise besonders deutlich ausfallen.

MATERIAL UND METHODE

Die Untersuchungen wurden an 28 weiblichen und 28 männlichen Ratten der Rasse Sprague Dawley durchgeführt, die zu Versuchsbeginn das Absatzalter von 21 Tagen erreicht hatten.

Die Tiere wurden paarweise in Käfigen mit einer Grundfläche von 40 x 26 cm gehalten. Die Raumtemperatur schwankte zwischen 20 und 25°C bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 55 - 60%. Die tägliche Helligkeitsperiode (Kunstlicht) erstreckte sich von 7 bis 19 Uhr.

Aus den 28 Käfigen wurden vier Gruppen von je sieben Paaren zusammengestellt. Die Ratten wurden den einzelnen Gruppen so zugeordnet, daß die durchschnittlichen Körpergewichte aller Gruppen nur gering voneinander abwichen.

Den Tieren aller Gruppen wurden definierte Mengen standardisierter Futterpellets (Altromin 1314) im Überschuß vorgelegt.

Nach Angaben der Hersteller beträgt der Anteil an Aminosäuren in Prozent der Diät:

Lysin	1,20
Methionin	0,40
Cystin	0,30
Phenylalanin	1,00
Tyrosin	0,70
Arginin	1,40
Histidin	0,50
Tryptophan	0,20
Threonin	0,80
Isoleucin	1,00
Leucin	1,80
Valin	1,10

Die Futteraufnahme wurde in regelmäßigen Abständen durch Zurückwiegen der nicht verbrauchten Futterreste festgestellt und das Körpergewicht der Tiere bestimmt. Mit diesen Daten wurde die so aufgenommene Menge von Tyrosin und Phenylalanin einer jeden Gruppe in g/kg Körpergewicht/Tag berechnet.

Allen Tieren stand Trinkwasser ad libitum zur Verfügung aus graduierten Glasgefäßen, die eine direkte Ablesung des Flüssigkeitsverbrauchs erlaubten.

Während das erste als Kontrolle dienende Kollektiv lediglich Futterpellets und Wasser erhielt, wurde der zweiten Gruppe zusätzlich Tyrosin (L-Tyrosin reinst, Fa. SERVA) an-

geboten. Den Untersuchungen sollte die Aufnahme des auf das Doppelte erhöhten Anteils von Tyrosin und Phenylalanin an der Gesamtfuttermenge zugrundeliegen.

Bereits bei Vorversuchen erwies sich die geringe Wasserlöslichkeit von Tyrosin mit maximal 2 mg/ml als Schwierigkeit bei der Verabreichung der Aminosäure. Es war vorgesehen worden, die Ratten mit einer flüssigen Diät (Liquid isocaloric rat diet, Bio Serv Inc., New Jersey), der nach Bedarf Tyrosin zugegeben werden sollte, zu versorgen. Dagegen ließ die Beobachtung, daß bereits nach kurzer Zeit eine Entmischung der Suspension eintrat und daß nur täglich mindestens vier Fütterungen eine ad-libitum-Aufnahme gewährleisteten, die Durchführung nicht realisierbar erscheinen. So wurde während des Hauptversuchs Tyrosin über das Trinkwasser verabreicht.

Bei steigender Gesamtfutter- und Flüssigkeitsaufnahme sinkt deren relativer Verbrauch, bezogen auf das anwachsende Körpergewicht. Diese Beziehung wurde durch die regelmäßige Kontrolle des Futter- und Wasserverbrauchs sowie des Körpergewichts berücksichtigt und die jeweils berechnete Konzentration des in Wasser anzubietenden Tyrosins an die vorliegenden Werte angeglichen. Trotz dieser Bemühungen ließ sich jedoch bei gesättigten Lösungen das teilweise Absinken der Substanz auf den Boden der Gefäße nicht verhindern, so daß die Bestimmung der von den Versuchstieren aufgenommenen Tyrosinmenge nicht exakt möglich war.

Zusätzlich zu dem mit Tyrosin angereicherten Nahrungsangebot wurde den Tieren der dritten Gruppe Naloxon-Hydrochlorid (Narcan^R, Endo Pharmaceutical Inc., Manati, Puerto Rico) über das Trinkwasser verabreicht in einer Konzentration, die ebenfalls unter regelmäßiger Gewichts- und Wasserverbrauchskontrolle einer Aufnahme von 0,01 mg/kg Körpergewicht/Tag entsprach.

Die vierte Gruppe war zu der Überprüfung einer möglichen Naloxonwirkung dem gleichen Nahrungsangebot wie die Kontrollgruppe ausgesetzt und nahm analog der dritten Gruppe Naloxon-Hydrochlorid über das Trinkwasser auf.

Neben der genannten regelmäßigen Bestimmung des Körpergewichts wurden die männlichen Ratten täglich untersucht, um den Zeitpunkt des vollständigen Hodenabstiegs in das Scrotum festzustellen. Ebenso wurde die Eröffnung des Vaginallumens der weiblichen Tiere kontrolliert.

Nach eingetretener Vaginalöffnung wurde der Zyklusstand der weiblichen Ratten mit Hilfe von ungefärbten Abstrichpräparaten des Vaginalepithels histologisch verfolgt. Der Verlauf von Zyklusgeschehen, Gravidität sowie Zeitpunkt der Geburt und Anzahl der Früchte wurden protokolliert. Unter Berücksichtigung des zirkadian ablaufenden Zyklusgeschehens der Ratten erfolgte die Behandlung der Tiere täglich zwischen 14 und 17 Uhr.

ERGEBNISSE

Verlauf der präpuberalen Entwicklung

Wie aus den Tabellen 1 und 2 sowie der Abbildung 1 hervorgeht, entwickelt sich in der dem Absetzen der Tiere folgenden Zeit ein deutlicher Unterschied in dem Verlauf der durchschnittlichen Körpergewichtszunahmen zwischen der Kontrolle und den Versuchsgruppen. Während übereinstimmend bei allen Gruppen das Gewicht der weiblichen Ratten langsamer ansteigt als das der männlichen, weisen die Tiere der drei Versuchsgruppen deutlich ein beschleunigtes Wachstum auf; die durchschnittliche Gewichtszunahme der weiblichen Tiere liegt nach 11 Versuchstagen mehr als 15 g und die der männlichen Ratten mehr als 20 g über der, die von Kontrolltieren erreicht wird. Während dieser Zeit wird nur bei den Kontrollen vereinzelt ein kurzfristig andauerndes Stagnieren oder sogar der Rückgang des Körpergewichts im Vergleich zum jeweiligen Vortag beobachtet.

Im Vergleich zu der Gewichts Differenz, die sich zwischen Kontroll- und Versuchsgruppen ergibt, erscheinen Unterschiede zwischen den behandelten Gruppen untereinander gering; der Streuungsbereich der Einzelwerte innerhalb der Gruppen ist bei den Versuchsgruppen ebenfalls enger begrenzt als der der Kontrollwerte.

♀	I	II	III
Kontrolle	51,9 $\pm$ 7,3	87,0 $\pm$ 10,8	35,1
Tyrosin	54,1 $\pm$ 6,4	107,0 $\pm$ 5,6	52,9
Naloxon	49,1 $\pm$ 7,8	100,3 $\pm$ 8,1	51,2
Tyrosin + Naloxon	52,3 $\pm$ 7,4	105,7 $\pm$ 6,6	53,4

Tabelle 1

Tabelle 2

♂	I	II	III
Kontrolle	61,6 $\pm$ 6,6	106,0 $\pm$ 12,9	44,4
Tyrosin	65,6 $\pm$ 5,1	133,6 $\pm$ 9,6	68,0
Naloxon	62,3 $\pm$ 6,3	127,6 $\pm$ 8,5	65,3
Tyrosin + Naloxon	63,6 $\pm$ 5,9	135,9 $\pm$ 8,9	72,3

Tabelle 1 u. 2: Vergleich der durchschnittlichen Körpergewichtszunahmen (III, angegeben in g $\pm$ einfacher Standardabweichung) der jeweiligen weiblichen (Tab. 1) und männlichen (Tab. 2) Gruppen zwischen dem Zeitpunkt zu Versuchsbeginn (= Absatzgewicht = I) und dem Gewicht nach 11 Versuchstagen (II).

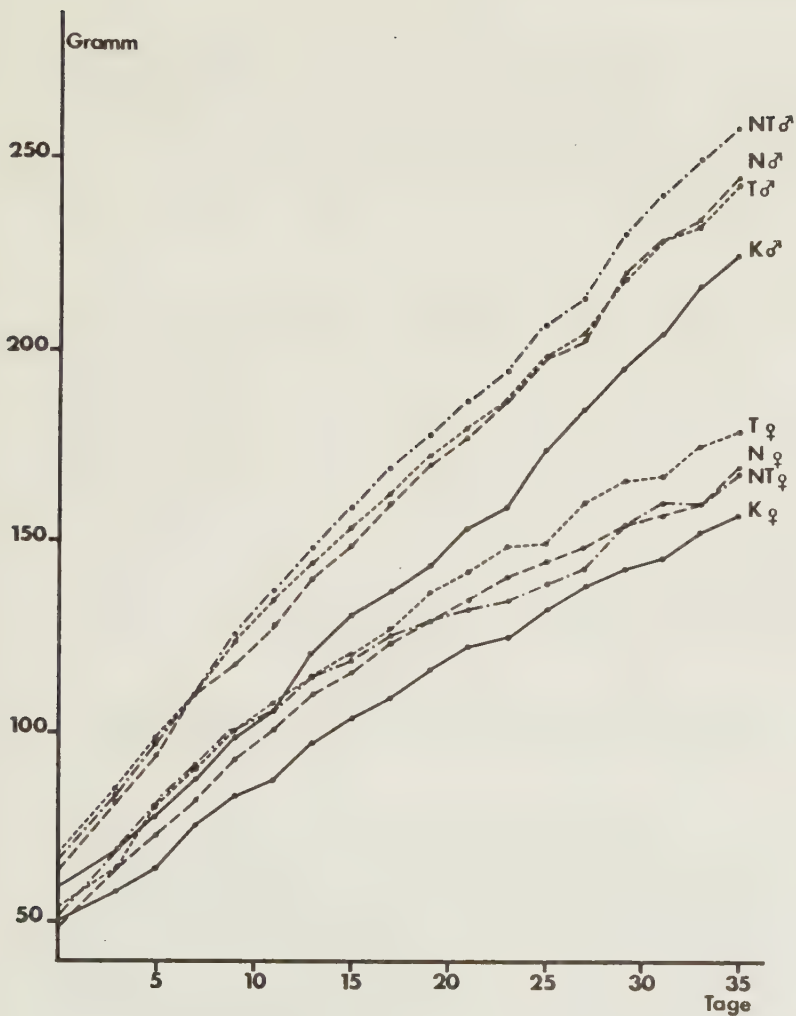


Abbildung 1: Vergleich der durchschnittlichen Zunahme des Körpergewichts der mit Tyrosin (T), Naloxon (N) sowie Tyrosin und Naloxon (NT) behandelten Gruppen mit der der Kontrollgruppen (K) bei männlichen und weiblichen Versuchstieren.

Das Eintreten der Pubertät

Männliche Tiere

Tabelle 3 stellt das durchschnittliche Alter und Gewicht der männlichen Tiere einer jeden Gruppe dar, bei dem erstmalig beide Hoden im Scrotum deutlich palpierbar sind. Daß der Descensus des linken Hodens bereits früher erfolgt, wird nicht berücksichtigt.

	Alter in Versuchstagen		Gewicht (g)	
		min./max.		min./max.
Kontrolle	$6,1 \pm 2,4$	3 - 9	$81,9 \pm 14,1$	61 - 103
Tyrosin	$3,6 \pm 0,9$	3 - 5	$89,3 \pm 6,3$	81 - 99
Naloxon	$3,6 \pm 0,9$	3 - 5	$86,1 \pm 7,9$	73 - 98
Tyrosin + Naloxon	$3,3 \pm 0,7$	3 - 5	$85,6 \pm 7,5$	79 - 99

Tabelle 3: Gewicht und Alter männlicher Tiere bei vollständig erfolgtem Hodenabstieg

Bei Tieren, die mit Tyrosin, Naloxon oder beiden Drogen behandelt worden waren, wird ein früherer Zeitpunkt des Hodenabstiegs bei einer geringeren Standardabweichung festgestellt als bei Kontrolltieren. Ebenso besteht innerhalb der Gruppe der unbehandelten Ratten eine breite Schwankung der Werte des entsprechenden Körpergewichts.

Aus Abbildung 1 wird deutlich, daß die Versuchsgruppen das Körpergewicht, das sie zur Zeit des Hodenabstiegs aufweisen, früher erreichen als der Durchschnitt der Kontrolltiere.

Durchschnittsalter und -gewichte der Gruppen der behandelten Tiere zeigen untereinander geringe Abweichungen; der Unterschied zu Werten der Kontrollgruppe erweist sich deutlicher bei der Betrachtung des Alters als der des Körpergewichts.

Weibliche Tiere

Tabelle 4 enthält eine Übersicht über das durchschnittliche Gewicht und Alter weiblicher Versuchstiere zum Zeitpunkt der Vaginalöffnung.

	Alter in Versuchstagen		Gewicht (g)	
		min./max.		min./max.
Kontrolle	$16,0 \pm 6,5$	9 - 28	$105,3 \pm 12,9$	90 - 130
Tyrosin	$11,0 \pm 1,8$	7 - 13	$107,0 \pm 9,1$	91 - 122
Naloxon	$10,0 \pm 2,8$	7 - 14	$96,6 \pm 3,7$	91 - 102
Tyrosin + Naloxon	$10,3 \pm 2,8$	7 - 14	$104,3 \pm 6,0$	96 - 112

Tabelle 4: Gewicht und Alter weiblicher Tiere bei Öffnung des Vaginallumens

Analog zu den Beobachtungen an männlichen Ratten wird auch hier ein früherer Zeitpunkt mit geringerer Streubreite bei Versuchstieren im Vergleich zu Kontrolltieren bei einem nur geringen Unterschied der entsprechenden Werte des durchschnittlichen Körpergewichts festgestellt. Die in Abbildung 1 dargestellte Beziehung gilt ebenfalls: Versuchstiere weisen eine größere Zunahme des Körpergewichts auf als Kontrollen.

Postpuberale Entwicklung, Zyklusgeschehen

Männliche Tiere

Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, bleibt der in Tabelle 2 aufgezeigte Unterschied, der zwischen den durchschnittlichen Körpergewichten der einzelnen Gruppen männlicher Ratten nach 11 Versuchstagen zu beobachten ist, auch während der folgenden Zeit bestehen.

Tabelle 5 gibt eine Übersicht über die Situation nach 50 Versuchstagen.

	Körpergewicht (g)	tägl. Zunahme (g)
Kontrolle	289,3 $\pm$ 20,8	6,3
Tyrosin	295,6 $\pm$ 12,6	5,1
Naloxon	299,0 $\pm$ 16,5	5,0
Tyrosin +Naloxon	311,3 $\pm$ 15,6	5,7

Tabelle 5: Durchschnittliches Körpergewicht und tägliche Gewichtszunahme männlicher Ratten nach 50 Versuchstagen.

Im Vergleich zu der Kontrollgruppe ist das Körpergewicht von Ratten nach Aufnahme von Tyrosin oder Naloxon leicht erhöht, eine weitere Steigerung ist deutlich erkennbar nach der kombinierten Gabe beider Drogen.

Das Körpergewicht hat zu dieser Zeit bei allen Gruppen noch zunehmende Tendenz; mit Tyrosin bzw. Naloxon behandelte Tiere weisen jedoch eine geringere Gewichtszunahme auf als die Kontrollgruppe und als Ratten nach gleichzeitiger Aufnahme von Tyrosin und Naloxon.

Weibliche Tiere

Die mit Tyrosin oder Naloxon behandelten weiblichen Tiere weisen auch nach erfolgter Vaginalöffnung ein höheres Körpergewicht auf als unbehandelte Tiere (vgl. Abb. 1). Während in der Gewichts Differenz zwischen Naloxon- und Naloxon/Tyrosin-Gruppen untereinander im Vergleich zu den Kontrolldaten nur ein geringer Unterschied besteht, ist das Körpergewicht weiblicher Ratten nach Tyrosinaufnahme deutlich erhöht.

Nach der Öffnung des Vaginallumens wird bei den Ratten aller Versuchsgruppen das Ingangkommen des Zyklusgeschehens festgestellt. Die Ergebnisse der zytologischen Befunde nach der Untersuchung des Vaginalepithels sind in Abbildung 2 (S.52) dargestellt. Die dem jeweiligen Versuchszeitpunkt bei jeder Ratte zugeordneten Zahlen markieren den Tag, an dem ein

Östrus beobachtet wird und geben die Zykluslänge seit dem Auftreten des vorangegangenen Östrus an.

Das Auftreten des ersten Östrus, der bei mikroskopischer Betrachtung der Vaginalabstriche an dem gehäuft Vorliegen verhornter polygonaler Epithelzellen erkennbar ist, wird in einem Zeitabstand zwischen einem und neun Tagen nach erfolgter Vaginalöffnung beobachtet. Im Anschluß daran tritt eine Wiederholung in regelmäßigeren Intervallen auf. Sie betragen entweder 4 - 5 Tage oder 12 - 14 Tage.

Der Ablauf von kurzen (4 - 5 Tage) und langen (12 - 14 Tage) Zyklen wird sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei den weiblichen Ratten der Versuchsgruppen festgestellt. Auch enthält jede Gruppe Tiere, die entweder nur kurz- oder nur langdauernde Zyklen aufweisen. Bei der Mehrzahl der Ratten findet jedoch ein Wechsel der Zykluslängen statt, wobei sowohl kurz- auf langdauernde Zyklen folgen als es auch in umgekehrter Reihenfolge zu beobachten ist.

Histologisch unterscheiden sich beide Zyklusvarianten in der Länge des Diöstrus, in dem vorwiegend Leukozyten im Vaginalabstrich beobachtet werden. In der Dauer der übrigen Zyklusphasen - Östrus, Pro- und Metöstrus - weisen die beiden Zyklusformen keinen erkennbaren Unterschied auf.

Nach 30 Versuchstagen beträgt die Summe aller Östrusgeschehen, die in jeder der aus sieben weiblichen Tieren bestehenden Gruppen beobachtet werden:

Kontrolle:	11
nach Tyrosinbehandlung:	18
nach Naloxonbehandlung:	16
nach gleichzeitiger Behandlung mit Tyrosin und Naloxon	: 13

Decktermin und Gravidität

Frühestens ab dem 13. bis 14. Tag nach dem letzten vorangegangenen Östrus sind bei weiblichen Ratten Anzeichen einer bestehenden Gravidität erkennbar. Bis zu diesem Zeitpunkt entspricht das mikroskopische Erscheinungsbild der Vaginalabstriche der Situation des Diöstrus.

Der erste Hinweis auf das Vorliegen einer Trächtigkeit besteht in der Beimengung von Blut zu dem Vaginalsekret. Diese Beobachtung wird bei allen graviden Ratten in der Zeit vom 13. bis zum 15. (- 16.) dem letzten Östrus folgenden Tag gemacht; allerdings tritt bei je einer Ratte jeder Versuchsgruppe bereits zu einem früheren Zeitpunkt Blut in dem Vaginalabstrich auf, und zwar zwischen dem 11. und 13. Zyklustag.

Während bei diesen Ratten jedoch am folgenden Tag der Beginn eines erneuten Zyklus durch die Beobachtung der Erscheinungsbilder von Proöstrus und Östrus festgestellt wird, bleibt bei graviden Tieren ein weiterer Östrus aus. Ferner weist das Vaginalsekret nach dem Rückgang der Blutung eine veränderte Beschaffenheit auf: es ist glasklar, schleimig und nahezu zellfrei. Dieser Befund bleibt in der folgenden Zeit bis zu dem der ersten Geburt vorangehenden Tag unverändert bestehen.

Weitere Anzeichen einer vorliegenden Trächtigkeit der Ratten bestehen in der vermehrten Zunahme des Körpergewichts (vgl. Abb. 3 - 30) sowie des Leibesumfangs und einer deutlichen Ausprägung der Mamillen. In diesem Stadium der Gravidität ist die Palpation von Früchten durch die Bauchwand ebenfalls möglich.

Die alleinige Betrachtung der Ergebnisse der Vaginalabstriche läßt einen eindeutigen Schluß auf eine Bedeckung nicht zu. Nur undeutlich weicht die Konsistenz des Vaginalsekrets, das im Östrus weiß, fest und wachsartig erscheint, mit einer stärkeren Verfestigung auf einen stattgehabten Deckakt hin. Ferner ist möglicherweise auf die Wahl des täglichen Untersuchungszeitraums zurückzuführen, daß nur in zwei Fällen die Anwesenheit von Spermien in den betreffenden Vaginalabstrichen beobachtet werden kann; schließlich muß berücksichtigt werden, daß selbst der Nachweis einer Bedeckung nicht in allen Fällen das Eintreten einer Gravidität zur Folge hat.

So wird der Termin der stattgefundenen erfolgreichen Bedeckung der weiblichen Tiere erst unter der Berücksichtigung des beschriebenen weiteren Verlaufs rückblickend als der Zeitpunkt festgelegt, an dem der letzte Östrus beobachtet wurde.

Die Tabelle 6 gibt eine Übersicht über den auf diese Weise festgestellten Decktermin, der in der durchschnittlichen Zahl der Versuchstage angegeben wird, sowie die zu diesem Zeitpunkt berechneten Mittelwerte und Standardabweichungen der Körpergewichte der einzelnen Gruppen.

Obwohl während des gesamten Versuchsablaufs jede Gruppe aus je sieben paarweise gehaltenen männlichen und weiblichen Versuchstieren besteht, liegen der Gruppe der gleichzeitig mit Tyrosin und Naloxon behandelten Tiere die Ergebnisse von nur je sechs Tieren zugrunde, da eine Ratte bis zu der Beendigung der Untersuchungen nach 80 Versuchstagen keine Anzeichen für eine Gravidität aufweist.

	n	Alter (Versuchstage)	Gewicht (g)	
			♀	♂
Kontrolle	7	40,7 $\pm$ 7,5	167,6 $\pm$ 13,3	251,9 $\pm$ 24,2
Tyrosin	7	35,1 $\pm$ 4,4	170,0 $\pm$ 21,0	241,9 $\pm$ 21,2
Naloxon	7	33,4 $\pm$ 4,6	160,9 $\pm$ 14,0	233,3 $\pm$ 18,7
Tyrosin + Naloxon	6	41,0 $\pm$ 6,5	176,7 $\pm$ 9,1	278,5 $\pm$ 16,5

Tabelle 6

Aus den Angaben in Tabelle 6 ist ersichtlich, daß eine Gravidität nach Aufnahme von Tyrosin oder Naloxon im Vergleich zu unbehandelten Tieren zu einem früheren Zeitpunkt eintritt. Dagegen erweist sich die zeitliche Differenz zwischen der mit sowohl Tyrosin als auch Naloxon behandelten Gruppe gegenüber den Kontrollen als gering.

Ein Vergleich der zu diesem Zeitpunkt erreichten Körpergewichte zeigt bei männlichen Ratten deutlicher als bei weiblichen nach Naloxon-Behandlung geringere und nach kombinierter Tyrosin- und Naloxon-Gabe höhere Werte als die der entsprechenden Kontrolltiere.

	n	Versuchstage	Gewichtszunahme (g)	Östrus
Kontrolle	7	24,4 $\pm$ 7,5	62,3 $\pm$ 21,0	16/7
Tyrosin	7	24,1 $\pm$ 5,4	63,0 $\pm$ 19,8	20/7
Naloxon	7	23,4 $\pm$ 6,4	64,3 $\pm$ 15,0	15/7
Tyrosin + Naloxon	6	30,2 $\pm$ 5,0	71,5 $\pm$ 9,7	16/6

Tabelle 7: Differenz zwischen Vaginalöffnungs- und Decktermin weiblicher Tiere

Tabelle 7 enthält Angaben über die Größe des zwischen dem Eintreten der Vaginalöffnung und dem Decktermin liegenden Zeitintervalls sowie über die in diesem Zeitraum erfolgenden Zunahmen des Körpergewichts und die je Gruppe erfaßten Östrusgeschehen.

Daraus geht hervor, daß die zeitliche Differenz zwischen den beiden Ereignissen bei Tieren nach alleiniger Tyrosin- bzw. Naloxonaufnahme nur wenig von der abweicht, die bei unbehandelten Tieren auftritt, während die Termine bei Ratten nach der kombinierten Behandlung beider Drogen einen größeren Abstand voneinander aufweisen. Ebenso ist der Betrag der in diesem Zeitraum erfolgenden Gewichtszunahme bei der letzteren höher als der der vorgenannten Gruppen.

In Abbildung 2 wird der zeitliche Verlauf des individuellen Zyklusgeschehens jeder Ratte aller vier Gruppen vergleichend dargestellt. Sie enthält den Zeitpunkt der Vaginalöffnung (V) sowie die mit Zahlen markierten Termine des aufgetretenen Östrus, wobei die Zahlen angeben, nach wievielen Tagen der Östrus einsetzt. Der jeweilige Östrus, bei dem die Bedeckung erfolgt, ist durch Einrahmung gekennzeichnet, der Termin der Geburt durch einen Stern. Die senkrechten unterbrochenen Linien stellen die Mittelwerte jeder Gruppe aus der Berechnung der Vaginalöffnung, des Deck- sowie des Geburtstermins dar.

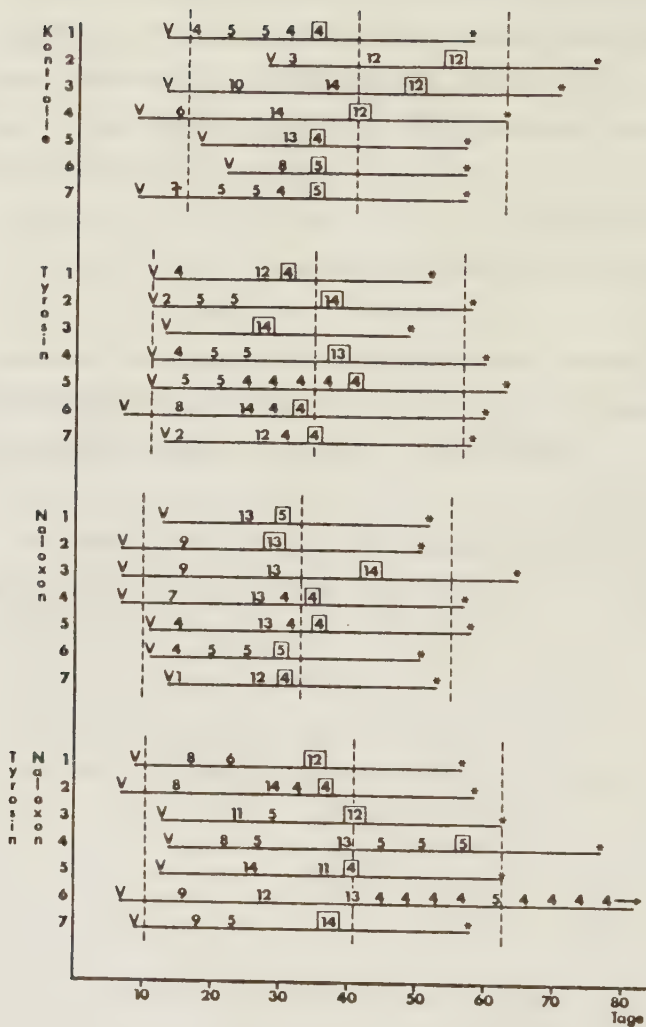


Abbildung 2: Zeitlicher Verlauf des individuellen Zyklusgeschehens. Erläuterungen im Text.

Der Verlauf der individuellen Entwicklung des Körpergewichts über den Versuchszeitraum wird in den Abbildungen 3 - 30 dargestellt. Aus ihnen sind die stetig erfolgenden Gewichtszunahmen ausgehend von der Vaginalöffnung bis zu dem Decktermin ersichtlich, die nur jeweils kurzfristig an den Tagen, an denen ein Östrus vorliegt, eine Abnahme aufweisen.

Mit der Ausnahme einer Ratte der Tyrosin-Naloxon-Gruppe gelangen alle untersuchten Tiere zur Gravidität. Bis zu der Zeit, die für die anderen Ratten dieser Gruppe den Decktermin darstellt, weist der Verlauf der Gewichtszunahme und des Zyklusgeschehens der betreffenden Ratte keine Besonderheit auf; abweichend von den übrigen Gruppenmitgliedern wird dagegen hier in der folgenden Zeit ein Stagnieren des Körpergewichts bei etwa 180 g und ein regelmäßig in vier- bis fünftägigen Intervallen fortlaufendes Zyklusgeschehen beobachtet.

Aus den Abbildungen ist ferner die beschleunigte Gewichtszunahme in der zweiten Graviditätshälfte sowie die Abnahme des Körpergewichts post partum ersichtlich, wobei die letzte genannte Zahl die Wurfgröße angibt. Der individuelle Verlauf kann den einzelnen Abbildungen entnommen werden.

Abb. 3:

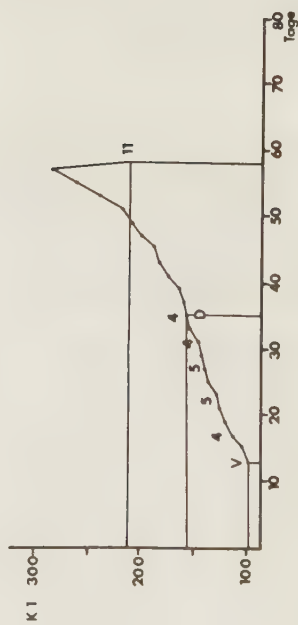


Abb. 4:

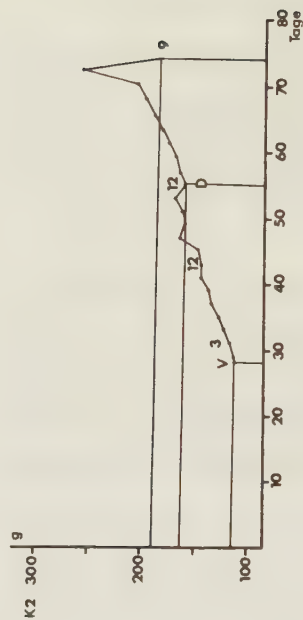


Abb. 5:

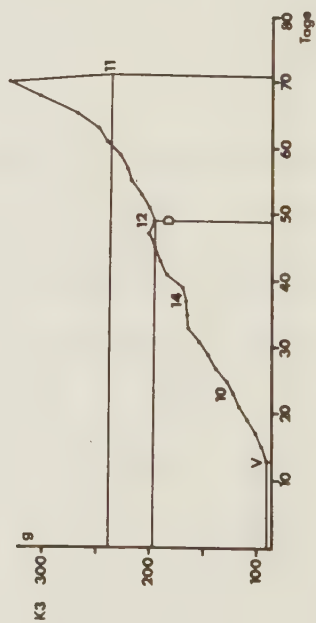


Abb. 6:

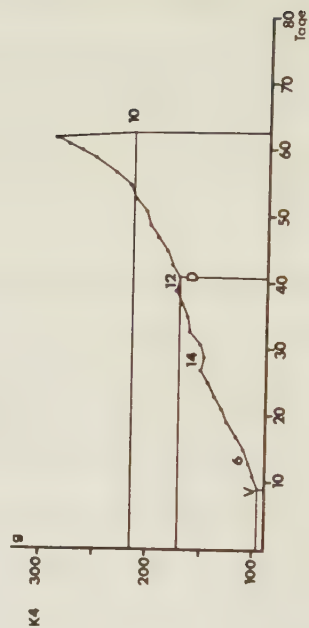


Abb. 7:

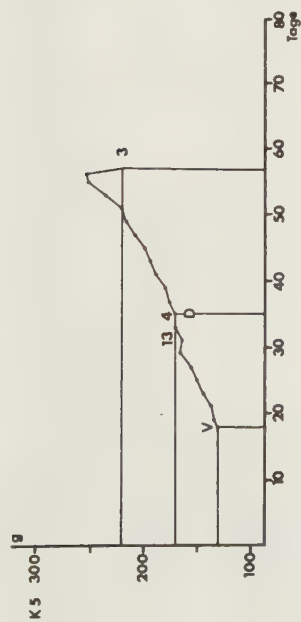


Abb. 9:

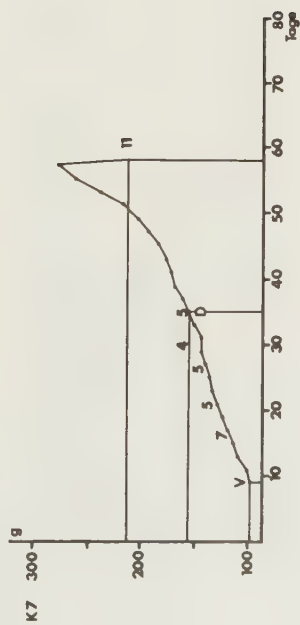


Abb. 8:

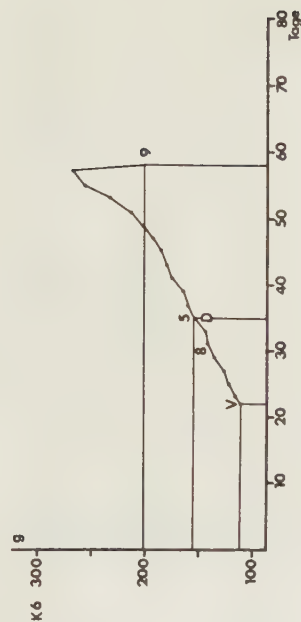


Abb. 10:

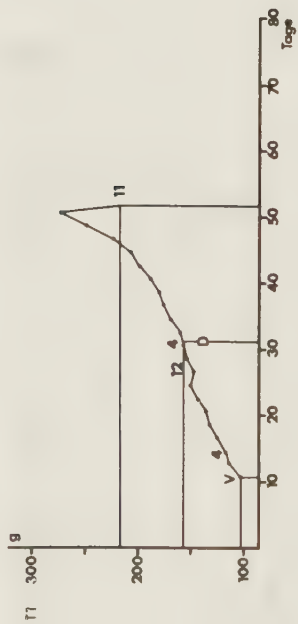


Abb. 11:

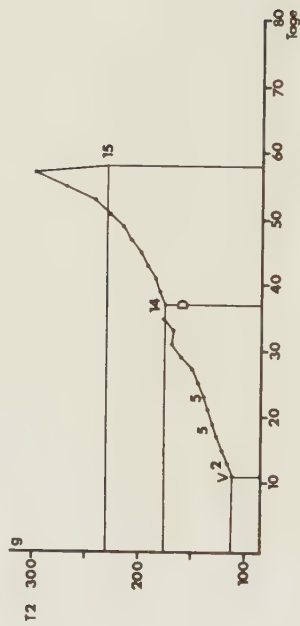


Abb. 12:

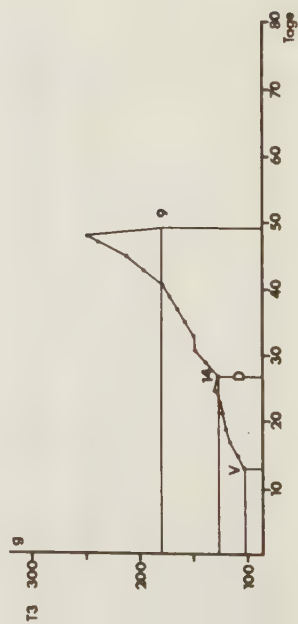


Abb. 13:

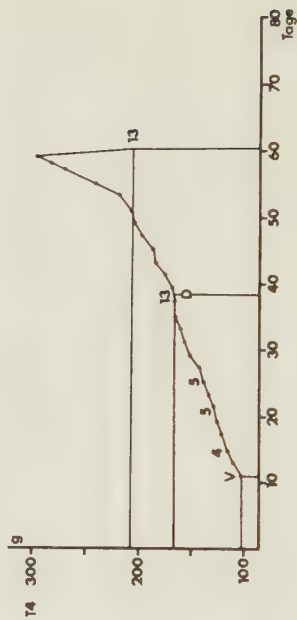


Abb. 14:

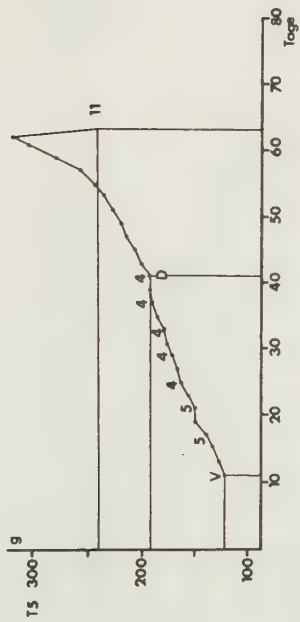


Abb. 15:

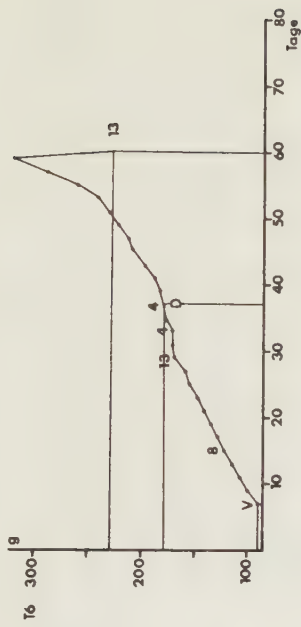


Abb. 16:

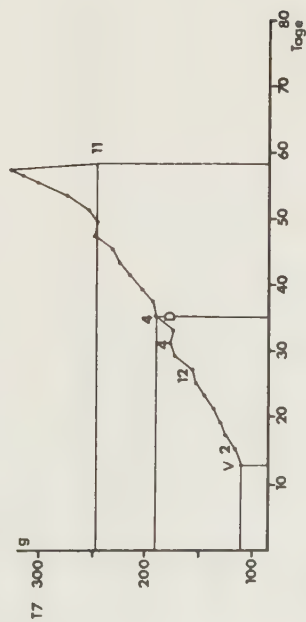


Abb. 17:

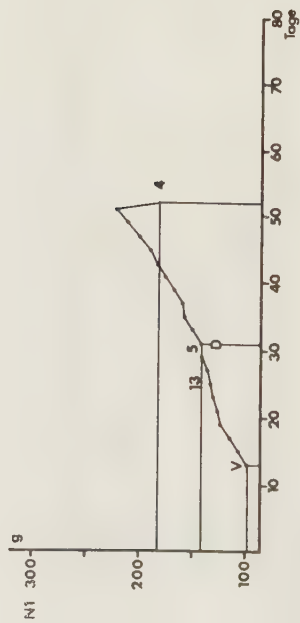


Abb. 18:

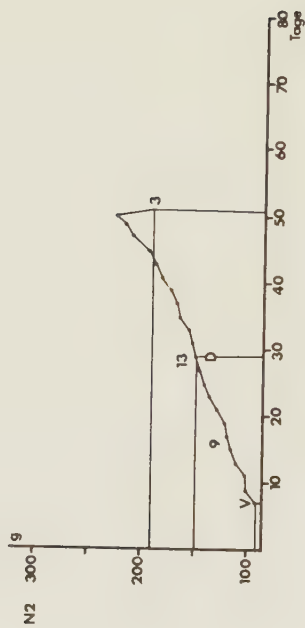


Abb. 19:

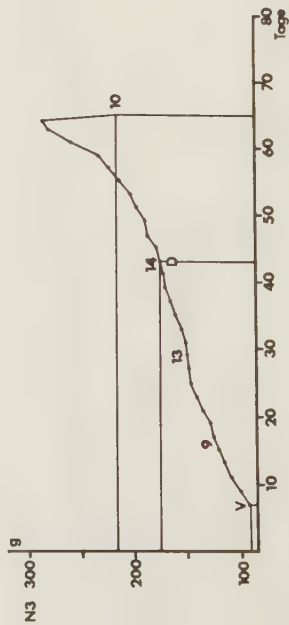


Abb. 20:

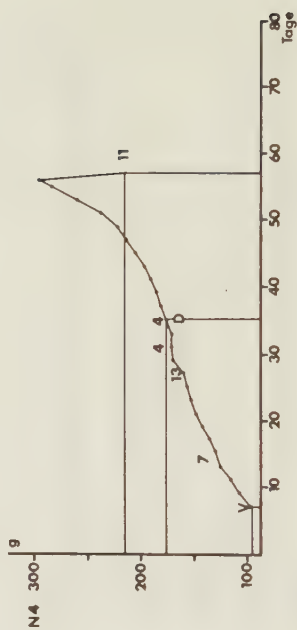


Abb. 21:

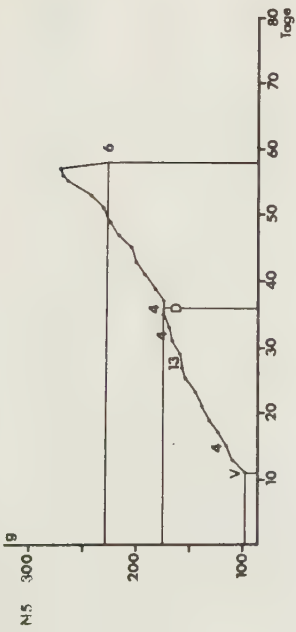


Abb. 23:

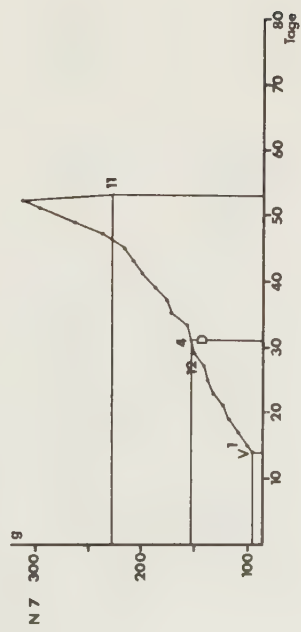


Abb. 22:

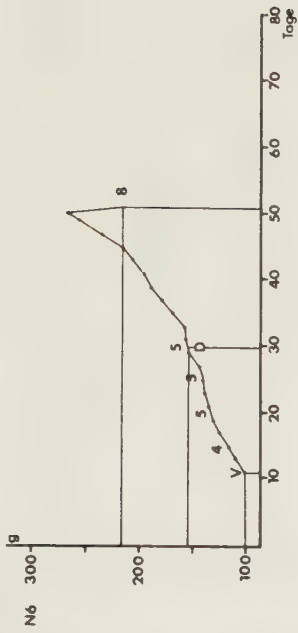


Abb. 24:

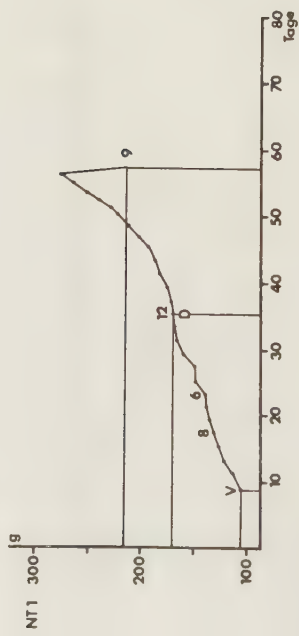


Abb. 25:

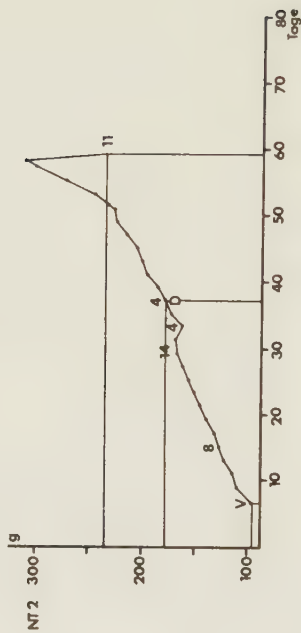


Abb. 26:

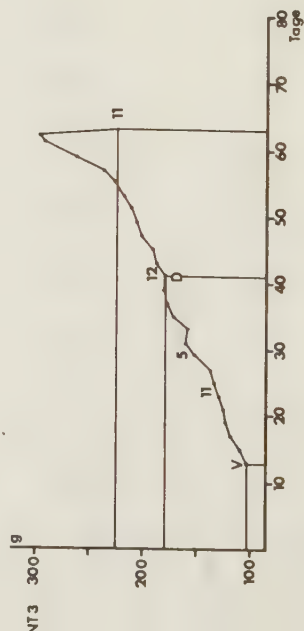


Abb. 27:

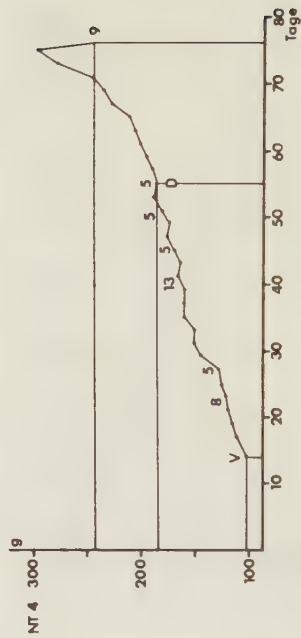


Abb. 28:

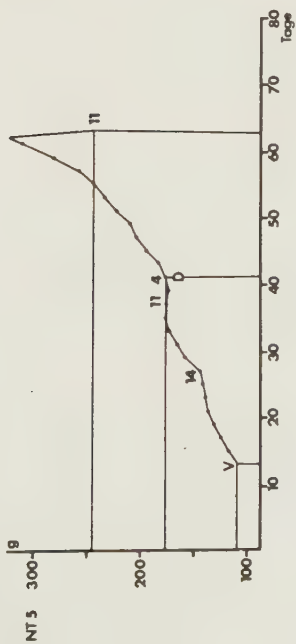


Abb. 29:

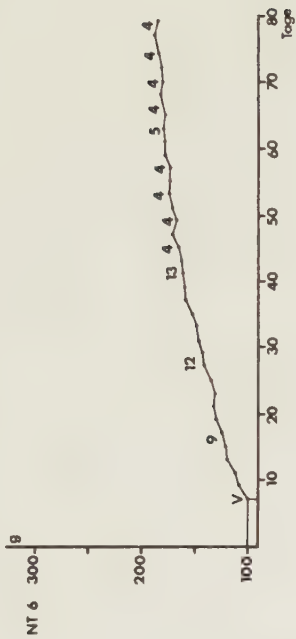
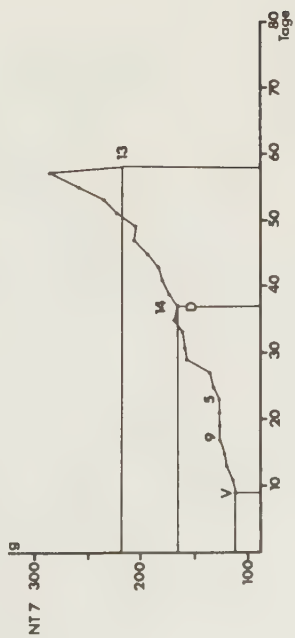


Abb. 30:



Geburt, Anzahl der Früchte

Aus den Abbildungen 2 und 3 - 30 sowie der Tabelle 8 geht der Zeitpunkt der Geburten hervor.

	n	Alter (Versuchstage)	min./max.
Kontrolle	7	$62,7 \pm 7,2$	57 - 76
Tyrosin	7	$57,1 \pm 4,5$	49 - 63
Naloxon	7	$55,3 \pm 4,7$	52 - 65
Tyrosin + Naloxon	6	$62,8 \pm 6,7$	57 - 77

Tabelle 8: Alter der Mütter zur Zeit der Geburt (Versuchstage)

Analog zu der Feststellung des Decktermins wird auch hier beobachtet, daß nach einer in allen Gruppen gleich langen Trächtigkeitsperiode von durchschnittlich 21,9 Tagen Tiere nach Tyrosin- oder Naloxonbehandlung früher zur Geburt gelangen als unbehandelte Ratten, während der mittlere Zeitpunkt der Gruppe der mit sowohl Tyrosin als auch Naloxon behandelten Tiere mit dem der Kontrollgruppe annähernd übereinstimmt.

Die Tabelle 9 enthält Daten der durchschnittlichen Körpergewichte der Mütter ante et post partum.

	n	ante partum	post partum	Differenz a.p./p.p.	Differenz Deckgewicht/p.p.
Kontrolle	7	282,6 $\pm$ 23,7	213,4 $\pm$ 14,6	69,1 $\pm$ 15,0	45,9 $\pm$ 12,5
Tyrosin	7	298,7 $\pm$ 25,6	222,3 $\pm$ 18,5	75,0 $\pm$ 11,4	52,3 $\pm$ 5,8
Naloxon	7	269,3 $\pm$ 32,3	211,9 $\pm$ 16,8	54,6 $\pm$ 19,1	51,0 $\pm$ 10,3
Tyrosin + Naloxon	6	299,5 $\pm$ 15,0	230,8 $\pm$ 11,1	68,7 $\pm$ 8,2	54,2 $\pm$ 7,1

Tabelle 9: Vergleich der Körpergewichte (g) vor und nach der Geburt sowie des Wachstums der Mütter während der Gravidität.

Während aus der Differenz zwischen dem jeweiligem Gewicht zur Zeit der erfolgreichen Bedeckung und dem entsprechenden Gewicht p.p. Rückschlüsse auf das Wachstum des mütterlichen Organismus während der Gravidität gezogen werden können, ermöglicht die Berechnung der Gewichtsunterschiede ante et post partum die Überprüfung, ob die Höhe dieser Differenz mit der festgestellten Größe der Würfe im Einklang steht.

	n	Wurfgröße	min./max.
Kontrolle	7	9,1 $\pm$ 2,6	3 - 11
Tyrosin	7	11,9 $\pm$ 1,8	9 - 15
Naloxon	7	7,6 $\pm$ 3,1	3 - 11
Tyrosin + Naloxon	6	10,7 $\pm$ 1,4	9 - 13

Tabelle 10: Durchschnittliche Wurfgröße

Wie aus Tabelle 10 hervorgeht, weist die Wurfgröße der Ratten nach Behandlung mit Tyrosin bzw. Tyrosin und Naloxon höhere Werte auf als die der Kontrolltiere. Dagegen produzieren die mit Naloxon behandelten Tiere Würfe mit einer geringeren Anzahl von Früchten.

In den Abbildungen 31 - 34 wird die Gesamtzahl der Früchte einer jeden Gruppe in einer Beziehung zu ihrem zeitlichen Erscheinen dargestellt.

Abb. 31:

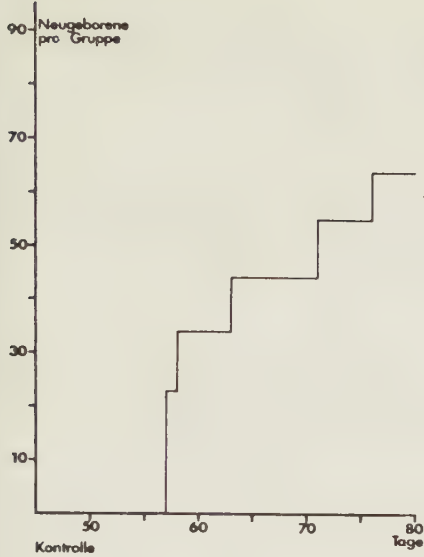


Abb. 32:

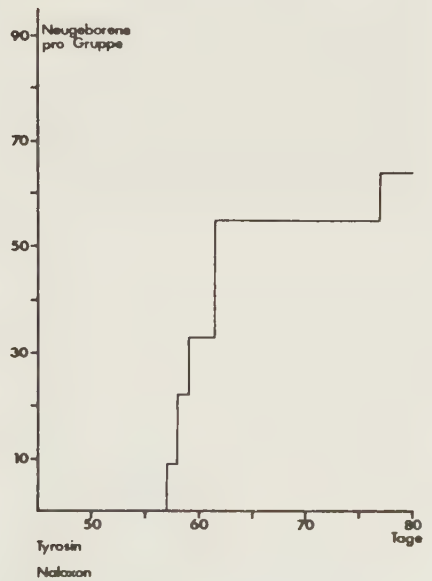
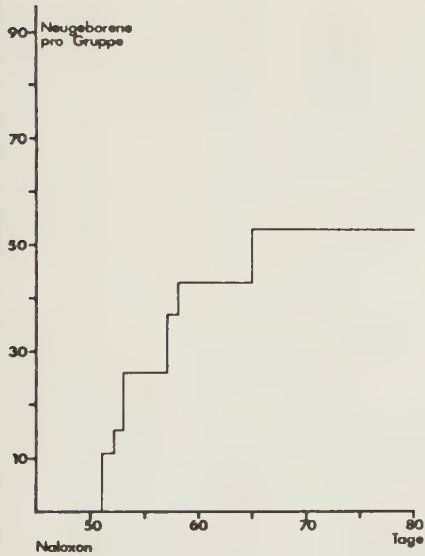
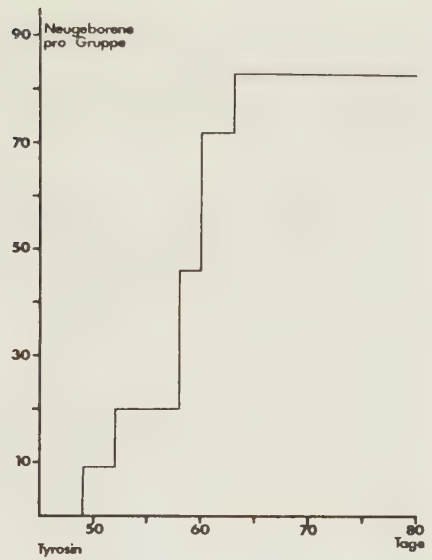


Abb. 33:

Abb. 34:

Tabelle 11 enthält ebenfalls die Anzahl der Früchte, die vergleichend nach einer jeweils bestimmten Anzahl von Versuchstagen in jeder der Gruppen geboren worden sind.

Der Vergleich zeigt, daß die Ratten nach Verabreichung von Tyrosin mehr Nachkommen zu einem früheren Zeitpunkt hervorbringen als die Kontrolltiere.

Mit Naloxon behandelte Ratten weisen ebenfalls frühere Geburtstermine auf; die Gesamtzahl der Früchte erreicht jedoch nicht die der unbehandelten Tiere.

Nach gleichzeitiger Aufnahme von Tyrosin und Naloxon gelangen sechs von sieben Ratten etwa zur gleichen Zeit zur Geburt wie unbehandelte Tiere und produzieren in sechs Würfen die gleiche Anzahl von Nachkommen, die die Kontrolltiere mit sieben Würfen erreichen.

	Zahl der Mütter	Versuchstage						
		50	55	60	65	70	75	80
Kontrolle	7	-	-	34	44	44	55	64
Tyrosin	7	9	20	72	83	83	83	83
Naloxon	7	-	26	43	53	53	53	53
Tyrosin + Naloxon	6	-	-	33	55	55	55	64

Tabelle 11: Zahl der Früchte je Gruppe zu verschiedenen Versuchszeitpunkten.

Veränderungen im Mutterverhalten werden in keinem Fall beobachtet. Ebenso kann eine Beeinträchtigung des Saugvorgangs nicht festgestellt werden.

Lediglich bei einer Ratte der mit Naloxon behandelten Gruppe sind nach der Geburt aggressive Reaktionen gegenüber Störungen aus der Umgebung zu bemerken.

DISKUSSION

Mit den vorliegenden Untersuchungen soll die Wirkung eines erhöhten Tyrosinangebots in der Nahrung auf das Einsetzen der Pubertät und die Reproduktion bei Ratten überprüft werden.

Nach Tyrosinbehandlung wird ein früherer Beginn der Pubertät festgestellt; und zwar wird bei männlichen Ratten der Hodenabstieg durchschnittlich 2,5 Tage vor dem der Kontrolltiere beobachtet, während die Öffnung des Vaginallumens weiblicher Tiere im Mittel 5 Tage früher erfolgt als die unbehandelten Tiere.

Im Vergleich zu der Kontrollgruppe finden anschließend beobachtete Geburten nach Tyrosinaufnahme bei unveränderter Trächtigkeitsdauer ebenfalls etwa 5 Tage früher statt. Dabei wird eine um durchschnittlich 2,8 Fruchte höhere Wurfgröße erreicht.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß Ratten durch die Verabreichung einer Nahrung mit einem erhöhten Gehalt an Tyrosin dazu veranlaßt werden, eine größere Anzahl von Nachkommen zu einem früheren Zeitpunkt zu produzieren. So scheint die Hypothese, daß durch das Angebot von Tyrosin ein die Pubertät und das Reproduktionsgeschehen fördernder Effekt hervorgerufen wird, durch die vorliegenden Untersuchungsergebnisse bestätigt werden zu können.

Einschränkend muß jedoch auf die den Ergebnissen zugrundeliegende geringe Anzahl von Versuchstieren hingewiesen werden, die eine statistische Auswertung und Sicherung der Ergebnisse nicht zuläßt.

Andererseits ist zu berücksichtigen, daß eventuell im Rahmen dieser Versuchsanordnung nur eine relativ geringe Menge an Tyrosin von den Tieren aufgenommen werden kann und daß daher möglicherweise unter Verwendung einer geeigneteren Applikationsmethode wie z.B. i.v.-Injektion oder per Magensonde (MAURON et al., 1982) ein deutlicherer Effekt beobachtet werden kann.

Ob eine Beteiligung endogener Opiate an den das Einsetzen der Pubertät und den Beginn der Reproduktion steuernden Mechanismen besteht, soll ebenfalls unter Verwendung des Opioid-Antagonisten Naloxon untersucht werden.

In den Ergebnissen werden ähnliche Daten gewonnen, wie sie nach der Verabreichung von Tyrosin beobachtet werden: männliche und weibliche Ratten erreichen unter Naloxoneinfluß früher das Stadium der Pubertät, weibliche Tiere gelangen durchschnittlich mehr als 7 Tage früher zur Geburt.

Diese Beobachtungen weisen im Einklang mit in der Literatur beschriebenen Resultaten auf einen physiologischerweise hemmenden Einfluß endogener Opiate hin.

Dagegen kann mit den vorliegenden Ergebnissen der genannte fördernde Effekt von Naloxon auf die Anzahl ovulierter Follikel nicht nachvollzogen werden, sofern die Betrachtung der geringen durchschnittlichen Wurfgröße mit 7,6 Früchten und die Feststellung, daß immerhin vier der sieben Würfe weniger als 9 Früchte aufweisen, Rückschlüsse auf die Zahl ovulierter Follikel erlauben. Ein eventuell direkt post partum einsetzender Kannibalismus, der möglicherweise in dieser Gruppe gehäuft auftreten und die Genauigkeit der Untersuchungsergebnisse beeinträchtigen könnte, kann unter Hinweis auf die kontrollierte Gewichts Differenz der Mütter ante et post partum ausgeschlossen werden. Möglicherweise liegt die Ursache dieser Diskrepanz in der unterschiedlich vorgenommenen Dosierung der Droge.

Der in den vorliegenden Untersuchungen gewählten Naloxon-Dosis wurde die zugrundegelegt, mit der GÜMBEL (1983) an Hunden hervorgerufene Effekte beobachten konnte. Die von GÜMBEL erhaltene Feststellung der Naloxon-induzierten Hemmung von Äußerungen des Mutterverhaltens kann jedoch mit den Befunden dieser Untersuchungen nicht bestätigt werden, was möglicherweise auf tierartliche Unterschiede in der Reaktion und/oder auf die abweichende Applikationsart (s.c.) zurückzuführen ist.

An Ratten nach gleichzeitiger Verabreichung von Tyrosin und Naloxon soll ein möglicher Zusammenhang zwischen den Wirkungsmechanismen beider Drogen aufgezeigt werden. Es wird festge-

stellt, daß der gemeinsame Einfluß beider Drogen das frühere Einsetzen der Pubertät bei männlichen und weiblichen Tieren bewirkt; eine Verstärkung des Effekts, der bereits durch die Gabe nur einer Substanz hervorgerufen wird, bleibt aus.

Dagegen scheint die positive Wirkung der einzelnen Drogen auf das Erreichen des Geburtstermins durch ihre gleichzeitige Anwesenheit aufgehoben bzw. unterdrückt zu werden: es werden Daten notiert, die sich von denen der unbehandelten Tiere nicht unterscheiden. Die Tiere dieser Gruppe, die zur Geburt gelangen, weisen Wurfgrößen auf, die höher liegen als die der Kontrollen, jedoch nicht in dem Ausmaß wie allein mit Tyrosin behandelte Tiere.

Während also an der Induktion der Pubertät weder ein fördernder noch ein gegenseitig hemmender Einfluß beider Drogen erkennbar ist, scheint eine gegenseitige Beeinträchtigung der Wirkungen von Tyrosin und Naloxon an dem Zustandekommen einer Gravidität vorzuliegen. Ein deutliches Anzeichen für diese Aussage besteht in der Beobachtung, daß das einzige Paar, das während des 80-tägigen Versuchszeitraums keinen Reproduktionserfolg aufweist, dieser Versuchsgruppe angehört.

Ob die nach der Gabe von Tyrosin und/oder Naloxon beobachteten Veränderungen im Reproduktionsgeschehen auf eine Beeinflussung der Fertilität der männlichen und/oder der weiblichen Ratten zurückzuführen ist, die ja jeweils der Steuerung verschiedener Mechanismen unterliegen sollen, kann durch die vorliegen-

de Versuchsanordnung nicht geklärt werden. Die Beurteilung wird überdies dadurch kompliziert, daß in allen Gruppen einige Zyklen die lange Dauer von 12 - 14 Tagen aufweisen. Da Anzeichen für einen Abort nicht festgestellt werden, weist diese Beobachtung auf eine dann ablaufende Pseudogravidität hin, wie sie nach einem Deckakt auftreten kann. Ob dann die Ursache für eine Nichtbefruchtung in der ungenügenden Fertilität des männlichen oder des weiblichen Tieres liegt, bedarf der weiteren Klärung.

Ebenso kann mit der vorliegenden Arbeit keine Aussage über den Mechanismus der Tyrosinwirkung gemacht werden. Es besteht die Möglichkeit einer Beeinflussung der Synthese und Freisetzung der Transmitter der katecholaminergen Neurone, die eine das Reproduktionsgeschehen steuernde Funktion ausüben. Die aufgezeigte Wechselwirkung mit Naloxon deutet darüberhinaus auf eine gemeinsame Beteiligung mit endogenen Opiaten an diesen Vorgängen hin. Diese Vermutungen können durch Resultate von CUSAN et al. (1977), die nach Substitution verschiedener Opiate die Notwendigkeit von L-Tyrosin für die Entfaltung ihrer biologischen Aktivität erkannten, noch weitergeführt werden.

Neben der genannten Theorie besteht ferner die Möglichkeit, daß Tyrosin die beobachtete Wirkung über eine Beeinflussung der Schilddrüsenfunktion hervorruft oder durch die Verbesserung des Proteinangebots einen fördernden Einfluß auf die Entwicklung des wachsenden Organismus ausüben kann. Letztere

Aussage läßt sich zumindest als positiver Nebeneffekt durch die Beobachtung bestätigen, daß das Wachstum der mit Tyrosin behandelten Ratten beschleunigt erfolgt.

In der vorliegenden Versuchsanordnung sind die Tiere mehreren Streßsituationen ausgesetzt. Bereits der erste Versuchstag, das Absetzen von der Mutter und die Umstellung an die neue Umgebung, stellt eine erhebliche Belastung dar. Im folgenden Verlauf ist eine Gewichtsabnahme weiblicher Tiere am Tag des Östrus zu beobachten; auch hier scheint eine Streßsituation vorzuliegen. Schließlich stellen die Gravidität, die überdies zur Zeit der Adoleszenz erfolgt und Energie sowohl für das Wachstum der Feten als auch der Mutter erfordert, und die ablaufende Geburt weitere Streßfaktoren dar.

Da nach den Untersuchungen von SWANSON et al. (1983) davon ausgegangen werden kann, daß juvenile Ratten zur Zeit des Absetzens bereits in der Lage sind, Streßsituationen zu verarbeiten, kann unter Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse festgestellt werden, daß die Überwindung der Streßsituationen, wie sie ab dem Versuchsbeginn hier vorliegen, Tieren, die mit Naloxon oder Tyrosin behandelt werden, eher möglich ist.

ZUSAMMENFASSUNG

An je sieben weiblichen und männlichen Ratten, die von dem Zeitpunkt des Absetzens an paarweise gehalten werden, wird die Wirkung von Tyrosin sowie Naloxon bzw. deren gemeinsamer Effekt auf das Einsetzen der Pubertät und des Reproduktionsgeschehens nach Verabreichung über das Trinkwasser untersucht.

Kontrolliert wird das zeitliche Einsetzen der Ereignisse, die Entwicklung des Körpergewichts sowie der Verlauf des weiblichen Zyklusgeschehens anhand von Abstrichpräparaten des Vaginalepithels.

Mit Tyrosin behandelte Ratten weisen folgende Unterschiede gegenüber Kontrolltieren auf:

- beschleunigtes prä- und postpuberales Wachstum männlicher und weiblicher Tiere;
- den um 2,5 Tage früher einsetzenden Descensus der Hoden bzw. die um 5 Tage früher erfolgende Öffnung des Vaginallumens;
- etwa 5 Tage früher einsetzende Geburten nach unveränderter Trächtigkeitsdauer
- mit einer um 2,8 erhöhten Anzahl der Früchte je Wurf.

Nach Naloxonbehandlung wird folgender Verlauf beobachtet:

- identische Wachstumsentwicklung männlicher Ratten mit der der Tyrosin-Gruppe; geringere Gewichtszunahme weiblicher Tiere im Vergleich zu Tyrosin-Werten bei im Vergleich zu Kontrollen beschleunigtem Wachstum;

- nur geringe Abweichungen im Zeitpunkt des Hodenabstiegs und der Vaginalöffnung von dem der bei Tyrosin-behandelten Tiere beobachteten Termin;
- um mehr als 7 Tage früher einsetzende Geburten als bei Kontrollen
- bei einer Wurfgröße von 7,6 Früchten.

Nach gleichzeitiger Verabreichung von Tyrosin und Naloxon wird festgestellt:

- deutliche Gewichtszunahme männlicher Ratten gegenüber den übrigen Gruppen; bei weiblichen Tieren ein im Vergleich zu Kontrollen beschleunigtes Wachstum, das die Geschwindigkeit der Tyrosin-Gruppe nicht erreicht;
- ein mit den Versuchsgruppen gleichzeitig auftretender Beginn der Pubertät;
- gleichzeitig mit der Kontrollgruppe einsetzende Geburten bei 6 der 7 Paare
- mit durchschnittlich 10,7 Früchten je Wurf
- sowie das Nichtzustandekommen der Gravidität bei einem Rattenpaar.

Mit der Einschränkung, daß die Ergebnisse aufgrund der geringen Anzahl von Versuchstieren statistisch nicht abgesichert sind, findet die Arbeitshypothese eine Bestätigung in der Feststellung, daß Ratten durch die Verabreichung einer Nahrung mit einem erhöhten Gehalt an Tyrosin dazu veranlaßt werden, eine größere Anzahl von Nachkommen zu einem früheren Zeitpunkt zu produzieren.

Ferner kann unter Berücksichtigung der vorliegenden Ergebnisse eine mögliche Wechselwirkung der den Erscheinungen zugrundeliegenden Mechanismen mit endogenen Opiaten nicht ausgeschlossen werden.

SUMMARY

The relevance of the amino-acid tyrosine to the reproduction of the rat.

The effect of tyrosine and naloxone resp. the combined action on the onset of puberty and reproduction after administration with drinking water is studied each in seven male and female rats.

The timing of the events, the growth of body weight, and the female cyclic development noticed by vaginal smears are observed.

Differences of tyrosine-treated rats in comparison with the control group are present as follows:

- accelerated pre- and postpuberal body growth of male and female animals;
- the 2.5 days earlier onset of testicle descensus; and vaginal opening 5 days earlier;
- the onset of parturition about 5 days earlier at constant length of pregnancy;
- an in 2.8 increased number of litter pups.

After naloxone treatment the following course is observed:

- identical body growth of male rats with the tyrosine group; smaller growth of the female animals compared with the tyrosine data, but accelerating growth in respect to the control group;

- only small deviations between the onset of testicle descensus and vaginal opening of the date received with tyrosine-treated animals;
- parturitions that occur more than 7 days before that of the control group;
- a litter size of 7.6.

After the combined treatment of tyrosine and naloxone there is observed:

- distinct growth of body weight of male rats compared to the other groups; accelerated body growth of female animals in comparison to the control group by not achieving the rate of the tyrosine-group;
- the onset on puberty synchronously with the test groups;
- parturition of 6 of the 7 pairs synchronously with the control group;
- 10.7 pups per litter on an average;
- and one pair of rats not achieving a parturition.

With the restriction of not statistically provided results due to the small number of tested animals the hypothetical expectation is confined with the results of the induction of rats to produce more young at an earlier time by administration of a meal with an increased amount of tyrosine.

With regard to the present results a potential interaction of the events controlling mechanisms and endogenous opioids cannot be denied.

LITERATURVERZEICHNIS

- ANDREWS, W.W., G.J. MIZEJEWSKI, S.R. OJEDA (1981): Development of estradiol-positive feedback on luteinizing hormone release in the female rat: A quantitative study.
Endocrinology 109, 1404-1413
- ARAKI, S., C.D. TORAN-ALLERAND, M. FERIN, R. VANDE WIELE (1975): Immunoreactive gonadotropin-releasing hormone (GnRH) during maturation in the rat: Ontogeny of regional hypothalamic differences.
Endocrinology 97, 693-697
- BARRACLOUGH, C.A., C.H. SAWYER (1955): Inhibition of the release of pituitary ovulatory hormones in the rat by morphine.
Endocrinol. 57, 329-337
- BENNETT, J.P., B.H. VICKERY (1970): Rats and Mice.
In: E.S.E. Hafez: Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals.
Lea & Febiger, Philadelphia
- BLANK, M.S., A.E. PANERAI, H.G. FRIESEN (1979): Opioid peptides modulate luteinizing hormone secretion during sexual maturation.
Science 203, 1129-1131

BLOOM, F.E. (1981): Neuropeptide - Botenstoffe in Gehirn und Körper.

aus: Scientific American 10/81, in: Spektrum d. Wissenschaft 12/81, 72-83

BRUNI, J.F., D. VAN VUGT, S. MARSHALL, J. MEITES (1977): Effects of naloxone, morphine and methionine enkephalin on serum prolactin, luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, thyroid stimulating hormone and growth hormone.

Life Sci. 21, 461-466

CARLSSON, A., M. LINDQVIST (1978): Dependence of 5-HT and catecholamine synthesis on precursor amino-acid levels in rat brain.

Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 303, 157-164

CICERO, T.J., B.A. SCHAIKNER, E.R. MEYER (1979): Endogenous opioids participate in the regulation of the hypothalamic-pituitary-luteinizing hormone axis and testosterone's negative feedback control of luteinizing hormone.

Endocrinol. 104, 1286-1291

CICERO, T.J., C.E. WILCOX, R.D. BELL, E.R. MEYER (1980): Naloxone-induced increases in serum luteinizing hormone in the male: mechanisms of action.

J. Pharmacol. Exp. Ther. 212, 573-578

- CHAPPEL, S.C., A. ULLOA-AGUIRRE, J.A. RAMALEY (1983): Sexual
Maturation in Female Rats: Time-Related Changes
in the Isoelectric Focusing Pattern of Anterior
Pituitary Follicle -Stimulating-Hormone.
Biology of Reproduction 28, 196-205
- CONLAY, L.A., T.J. MAHER, R.J. WURTMAN (1981): Tyrosine in-
creases blood pressure in hypotensive rats.
Science
- CUSAN, L., A. DUPONT, G.S. KLEDZIK, F. LABRIE, D.H. COY, A.V.
SCHALLY (1977): Potent prolactin and growth
hormone releasing activity of more analogues
of met-enkephalin.
Nature 268, 544-547
- EHRENREICH, H. (1981): Bedeutung endogener Opiate im Rahmen
des Fortpflanzungsgeschehens.
Diss. med. vet., München
- EVERETT, J.W. (1964): Central neural control of reproductive
functions on the adenohipophysis.
Physiol. Rev. 44, 373-431
- FOX, R.R., C.W. LAIRD (1970): Sexual Cycles.
in: E.S.E. Hafez: Reproduction and Breeding
Techniques for Laboratory Animals.
Lea & Febiger, Philadelphia

- GOLDBERG, R., N. CONFORTI, I.M. SPITZ (1980): Prolactin and luteinizing hormone response to methionine enkephalin in normal and castrated rats.
Israel. J. Med. Sci. 16, 410
- GÜMBEL, C. (1983): Die therapeutische Wirkung des Opioid-Antagonisten Naloxon bei der Lactomanie der Hündin.
Diss. med. vet., München
- HAFEZ, E.S.E. (1970): Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals.
Lea & Febiger, Philadelphia
- HOHLWEG, W. (1934): Veränderungen des Hypophysenvorderlappens und des Ovariums nach Behandlung mit großen Dosen von Follikelhormon.
Klin. Wschr. 13, 92-95
- HUGHES, J., H.W. KOSTERLITZ, T.W. SMITH (1977): The distribution of methionine enkephalin and leucine-enkephalin in the brain and peripheral tissues.
Br. J. Pharmacol. 61, 639-647
- HULSE, G., G. COLEMAN, J. NICHOLAS, K. GREENWOOD (1982): Reversal of the anti-ovulatory action of stress in rats by prior administration of naloxone hydrochloride.
J. Reprod. Fert. 66, 451-456
- IKEDA, M., M. LEVITT, S. UDENFRIEND (1965): Hydroxylation of phenylalanine by purified preparations of adrenal and brain tyrosine hydroxylase.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 18, 482-488

- KMENT, A. (1976): Endokrinium.
In: Scheunert, A. u. A. Trautmann: Lehrbuch der
Veterinär-Physiologie
Parey Verlag, Berlin u. Hamburg
- KOVACIC, N.M.I. (1970): Endocrinology of Reproduction.
In: E.S.E. Hafez: Reproduction and Breeding
Techniques for Laboratory Animals.
Lea & Febiger, Philadelphia
- KRAUSSMÜLLER, H. (1976): Der Einfluß von 2-Br- α -Ergocryptin auf
Geschlechtsorgane und Sexualverhalten der männ-
lichen Ratten.
Diss. med. vet., München
- LIU, T., G.L. JACKSON (1978): Modifications of luteinizing
hormone biosynthesis and release by gonadotropin-
releasing hormone, cycloheximide and actinomycin D.
Endocrinol. 103, 1253-1263
- LOVENBERG, W., S.J. VICTOR (1974): Regulation of tryptophan
and tyrosine hydroxylase.
Life Sci. 14, 2337-2353
- LUCKY, A.W., B.H. RICH, R.L. ROSENFELD, V.S. FANG, N. ROCHE-
BENDER (1980): LH-bioactivity increases more
than immunoactivity during puberty.
J. Pediat. 97, 205-210

- MARTON, I., I. MOLNAR, K. KÖVES, B. HALÁSZ (1981): Naloxone reversal of the pentobarbital induced blockade of ovulation in the rat.
Life Sci. 28, 737-743
- MAURON, C., R.J. WURTMAN (1982): Co-Administering Tyrosine with Glucose Potentiates its Effect on Brain Tyrosine Levels.
J. Neural Transmission 55, 317-321
- MEITES, J., J.F. BRUNI, D.A. VAN VUGT (1979): Effects of endogenous opiate peptides on release of anterior pituitary hormones.
In: Central Nervous System Effects of Hypothalamic Hormones and Other Peptides, 261-271, ed. by R. Collu, A. Barbeau, J. Ducharme and J.G.Rochefort
- MELAMED, E., B.S. GLAESER, J.H. GROWDON, R.J. WURTMAN (1980): Plasma tyrosine in normal humans: Effects of oral tyrosine and protein-containing meals.
J. Neural. Transm. 47, 299-306
- MEYERSON, B.J., L. TERENIUS (1977): β -endorphin and male sexual behaviour.
Europ. J. Pharmacol. 42, 191-192
- MOORE, W.T., D.N. WARD (1980): Pregnant Mouse Serum Gonadotropin. An in vitro biological characterization of the luteotropin-follitropin dual activity.
J. Biol. Chem. 255, 6930-6936

- MORRE, M.C., F. HEFTI, R.J. WURTMAN (1980): Regional variations in brain tyrosine levels following tyrosine administration.
J. Neural Transm. 49, 45-50
- MORRE, M., R.J. WURTMAN (1981): Characteristics of synaptosomal tyrosine uptake: Relation to brain regions and to presence of other amino acids.
Life Sci. 28, 65-75
- MUKHOPADHYAY, A., F. LEIDENBERGER, V. LICHTENBERG (1979): A comparison of bioactivity and immunoactivity of luteinizing hormone stored in and released in vitro from pituitary glands of rats under various gonadal states.
Endocrinol. 104, 925-931
- NAGATSU, T., M. LEVITT, S. UDENFRIEND (1964): Tyrosine hydroxylase: The initial step in norepinephrine biosynthesis.
J. Biol. Chem. 239, 2910-2917
- PACKMAN, P.M., J.A. ROTHCHILD (1976): Morphine inhibition of ovulation: reversal by naloxone.
Endocrinol. 99, 7-10
- PARDRIDGE, W.M. (1977a): Regulation of amino acid availability to the brain.
In: Nutrition and the Brain, ed. by R.J.Wurtman and J.J. Wurtman, Vol. 1, Raven Press, New York

- PARDRIDGE, W.M., W.H. OLDENDORF (1977b): Transport of metabolic substrates through the blood-brain barrier. *J. Neurochem.* 28, 5-12
- PARVIZI, N., F. ELLENDORF (1980): β -endorphin alters luteinizing hormone secretion via the amygdala but not the hypothalamus. *Nature* 286, 812-813
- PECKHAM, W.D., E. KNOBIL (1976): The effects of ovariectomy, estrogen replacement and neuraminidase treatment on the properties of the adenohipophysical glycoprotein hormones in the rhesus monkey. *Endocrinol.* 98, 1054-1060
- PHILIPPU, A., H. DIETL, J.N. SINHA (1980): Rise in blood pressure increases the release of endogenous catecholamines in the anterior hypothalamus of the cat. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 310, 237-240
- REITER, E.O., I.Z. BEITIUS, T. OSTEAL, J.P. GUTAI (1982): Bioassayable luteinizing hormone during childhood and adolescence and in patients with delayed puberal development. *J. Clin. Endocr. Metab.* 54, 155-161
- ROTSZTEJN, W.H., S.V. DROUVA, E. PATTOU, C. KORDON (1978): Met-enkephalin inhibits in vivo dopamine-induced LHRH-release from mediobasal hypothalamus of male rats. *Nature* 274, 281-282

- SARKAR, D.K., G. FINK (1979): Mechanisms of the first spontaneous gonadotropin surge and that induced by pregnant mare serum and effects of neonatal androgen in rats.
J. Endocrinol. 83, 339-345
- SAWYER, C.H. (1963): Discussion.
In: Advances in Neuroendocrinology, 444-457, ed. by A.V. Nalbandov, Univ. of Illinois Press, Urbana, IL
- SEELEY, R.R. (1983): Effect of Indomethacin on Reproduction Under Laboratory and Field Conditions in Deer-mice (*Peromyscus maniculatus*).
Biol. of Reproduction 28, 148-153
- SINHA, J.N., H. DIETL, A. PHILIPPU (1980): Effect of a fall in blood pressure on the release of catecholamines in the hypothalamus.
Life Sci. 26, 1751-1760
- STEGE, R.W., W.E. SONNTAG, D.A. VAN VUGT, L.J. FORMAN, J. MEITES (1980): Reduced ability of naloxone to stimulate LH and testosterone release in aging male rats; possible relation to increase in hypothalamic met⁵-enkephalin.
Life Sci. 27, 747-753
- SVED, A.F., J.D. FERNSTROM, R.J. WURTMAN (1979a): Tyrosine administration decreases serum prolactin levels in chronically reserpinized rats.
Live Sci. 25, 1293-1300

- SVED, A.F., J.D. FERNSTROM, R.J. WURTMAN (1979b): Tyrosin administration reduces blood pressure and enhances brain norepinephrine release in spontaneously hypertensive rats.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 76, 3511-3514
- SWANSON, H.H., N.E. VAN DE POLL (1983): Effects of an isolated or enriched environment after handling on sexual maturation and behaviour in male and female rats.
J. Reprod. Fert. 69, 165-171
- VAN VUGT, D.A., J.F. BRUNI, J. MEITES (1978): Effects of morphine and naloxone on the post-castration rise of luteinizing hormone.
IRCS J. Med. Sci. 7, 56-61
- WILSON, J.M., A.H. MEIER (1983): Tryptophan Feeding Induces Sensitivity to Short Daylengths in Photorefractory Hamsters.
Neuroendocrinol. 36, 59-63
- WURTMAN, R.J., J. AXELROD, D.E. KELLY (1968a): Light, the pineal and the biological rhythms.
In: The Pineal Gland, 108-144, New York Acad. Press
- WURTMAN, R.J., J. AXELROD, D.E. KELLY (1968b): The physiology of the pineal.
In: The Pineal Gland, 145-171, New York, Acad. Press

- WURTMAN, R.J., F. LARIN, S. MOSTAFAPOUR, J.D. FERNSTROM (1974):
Brain catechol synthesis: Control by brain tyro-
sine concentrations.
Science 185, 183-184
- WURTMAN, R.J., F. HEFTI, E. MELAMED (1981): Precursor Control
of Neurotransmitter Synthesis.
Pharmacol. Rev. 32, 315-335
- YASUKAWA, N., H. MONDER, S.D. MICHAEL, J.J. CHRISTIAN (1978):
Opiate antagonist counteracts reproductive in-
hibition by porcine ACTH extract.
Life Sci. 22, 1381-1390

Besonders herzlich danken möchte ich Herrn Professor Dr. M. Rüsse für die freundliche Überlassung des Themas und die mir jederzeit gern gewährte Unterstützung bei der Durchführung dieser Untersuchungen.

Ebenso gilt mein Dank allen Mitarbeitern der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik, die mich durch praktische Hinweise und Hilfe unterstützt haben.

LEBENS LAUF

Am 9. Oktober 1953 wurde ich in Dortmund als Tochter des Diplom-Volkswirts Peter Holland und seiner Ehefrau Alwine geboren.

Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Volksschule in Dortmund-Aplerbeck; im Anschluß daran das Goethe-Gymnasium in Dortmund, an dem ich 1972 die Reifeprüfung des mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweiges ablegte.

Von 1972 bis 1975 studierte ich Biologie an der Ruhr-Universität Bochum und wechselte dann an die Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn über, um das Studium im März 1977 mit dem Diplom abzuschließen.

Von 1977 bis 1979 studierte ich Tiermedizin an der Freien Universität Berlin, setzte das Studium anschließend an der Universität München fort und beendete es 1982 mit dem Staatsexamen.

Seit 1981 bin ich mit dem Zahnarzt Dr. Wolfgang Scheuermann verheiratet; 1982 wurde unsere Tochter Johanna geboren.

Im Februar 1983 begann ich an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Universität München mit der Durchführung der vorliegenden Untersuchungen.

